

SÉRIE A, N° 4677
N° D'ORDRE: 5524

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

René MOTAIS

1^{re} THÈSE. — Les mécanismes d'échanges ioniques branchiaux chez les Téléostéens.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 16 février 1966 devant la Commission d'examen.

MM. JOST	<i>Président.</i>
FONTAINE	} <i>Examineurs.</i>
MOREL	

MASSON & C^{ie}, ÉDITEURS
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS (VI^e)

1966



Digitized by the Internet Archive
in 2026



https://archive.org/details/IA41533912_0023

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

René MOTAIS

**1^{re} THÈSE. — Les mécanismes d'échanges ioniques branchiaux chez les
Téléostéens.**

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 16 février 1966 devant la Commission d'examen.

MM. JOST	<i>Président.</i>
FONTAINE	} <i>Examineurs.</i>
MOREL	

MASSON & C^{ie}, ÉDITEURS

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS (VI^e)

1966

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Dogen..... M. ZAMANSKI.

PROFESSEURS

BRELOT	T	Analyse supérieure.	J. P. MATHIEU	T	Physique optique.
PRENANT	T	Anat. et histol. comp.	COUTEAUX	T	Cytologie.
GRASSÉ	T	Evol. des êtres organisés.	MAY	T	Zoologie (Orsay).
PRÉVOST	T	Chimie organique.	CHOQUET	T	Théorie des fonc. et top.
WYART	T	Minéralogie et cristallogr.	FELDMANN	T	Biologie vég. marine.
TEISSIER	T	Zoologie.	GUINIER	T	Phys. des solides (Orsay).
MANGENOT	T	Biologie végétale (Orsay).	JOST	T	Physiologie comparée.
P. AUGER	T	Physique quant. et relat.	FORTET	T	Calcul des probabilités et phys. mathémat.
MONNIER	T	Physiologie générale.	SCHWARTZ	T	Calcul différ. et intégral.
PIVETEAU	T	Paléontologie.	CHOUARD	T	Physiologie végétale.
ROCARD	T	Physique (E. N. S.).	MALAVARD	T	Aviation (tech. aéron.).
H. CARTAN	T	Mathématiques (E. N. S.).	NORMANT	T	Synthèse organique.
LAFFITTE	T	Chimie générale.	BÉNARD	T	Chimie minérale.
N... ..	T	Géométrie supérieure.	BUVAT	T	Botanique (E. N. S.).
COULOMB	T	Physique du Globe.	DUGUÉ	T	Statistiques mathémat.
M ^{lle} COUSIN ..	T	Biol. anim. (S. P. C. N.).	SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.	ULRICH	T	Physiologie vég. appl.
BOCQUET	T	Zoologie.	MARÉCHAL	T	Optique théor. et appl.
KASTLER	T	Physique (E. N. S.).	KIRRMANN	T	Théories chimiques.
EPHRUSSI	T	Génétique.	CHADEFAUD	T	Botanique.
RIVIÈRE	T	Géologie (S. P. C. N.) et sédimentologie (Orsay).	M ^{lle} LE BRETON ..	T	Physiologie de la nutrit.
GAUTHERET ..	T	Biologie végét. (P. C. B.).	LELONG	T	Application de l'analyse à la géométrie.
R. LUCAS	T	Recherches physiques.	DEVILLERS	T	Anat. et histol. compar.
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire.	EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
ARNULF	T	Optique appliquée.	FRANÇON	T	Physique (S. P. C. N.).
M. MORAND	T	Enseignement de phys.	GLANGEAUD	T	Géog. phys. et géol.
SOLEILLET	T	Physique (P. C. B.).	DODEMENT	T	Mathématiques (M. G. P.).
FORTIER	T	Mécan. expér. des fluides.	PISOT	T	Tech. math. de la phys.
P. DRACH	T	Zoologie.	ROCH	T	Géologie.
QUENEY	T	Météorologie et dyna- mique atmosphérique.	SCHATZMANN	T	Astrophysique.
GALLIEN	T	Embryologie.	TERMIER	T	Géologie générale.
EICHHORN	T	Botanique.	ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
DE CUGNAC	T	Biologie vég. (S. P. C. N.).	LENNUIER	T	Physique (M. G. P.).
M ^{lle} CAUCHOIS ..	T	Chimie physique.	RIZET	T	Génétique (Orsay).
THELLIER	T	Physique du globe.	ROUTHIER	T	Géologie appliquée.
L'HÉRITIER	T	Biologie gén. (Orsay).	M ^{me} TONNELAT ..	T	Physique théorique.
GRIVET	T	Radio-électricité (Orsay).	DIXMIER	T	Mathématiques (M. P. C.).
PONCIN	T	Mécanique générale.	SOUCHAY	T	Chimie générale.
DUBREIL	T	Arith. et th. des nomb.	AIGRAIN	T	Electrotechnique gén.
QUELET	T	Chimie organique.	BRUSSET	T	Chimie systématique.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.	M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
CHAMPETIER ..	T	Chimie macromolécul.	M ^{me} CHAIX	T	Chimie biologique.
CUVILLIER	T	Micropaléontologie.	M ^{me} HUREL-PY ..	T	Biologie végét. (P. C. B.).
JUNG	T	Géologie.	PANNETIER	T	Chimie générale.
TRILLAT	T	Microsc. et diff. élect.	BRUN	T	Mécan. des fluides I.
WIEMANN	T	Chimie organ. et struct.	LEDERER	T	Chimie biolog. (Orsay).
JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste (Orsay).	M ^{me} DUBREIL	T	Mathématiques (Agrég.).
VASSY	T	Physique de l'atmosphère.	M ^{me} LELONG	T	Mathémat. II (E. N. S.).
DESTOUCHES ..	T	Théories physiques.	BELLAIR	T	Géologie (S. P. C. N.).
AMIEL	T	Chimie générale.	COTTE	T	Physique électricité.
HOCART	T	Minéralogie et cristallogr.	J. E. DUBOIS	T	Chimie organique.

Professeurs (suite).

LAMOTTE	T	Zoologie (E. N. S.).	FRÉON	T	Chimie organique (Orsay).
A. MICHEL ..	T	Chimie minérale (Orsay).	HELLER	T	Physiologie végétale.
OLMER	T	Energétique générale.	TORTRAT	T	Calcul des probabilités.
ROUAULT	T	Electricité (Orsay).	CAILLEUX	T	Géologie (S. P. C. N.).
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.	MAGNAN		Physique électricité.
BARCHWITZ ..	T	Chimie physique.	DAUDEL	T	Mécan. ondul. appl. à la chimie théor. et à la phys. nucl.
BROSSEL	T	Physique atomique.	M ^{lle} FOURCROY		Biologie végét. (S.P.C.N.).
BUSER	T	Physiologie comparée.	Mme CHOQUET-BRUHAT ...	T	Mécan. analytique et méc. céleste.
CAMUS	T	Physiologie végétale.	M ^{lle} VEIL	T	Physiologie générale.
CASTAING	T	Phys. II, thermo (Orsay).	LWOFF	T	Microbiologie.
CURIEN	T	Minér. et cristallog.	SIESTRUNCK ..	T	Mécan. phys. et expérim.
MOYSE	T	Physiol. vég. (Orsay).	LACOMBE	T	Métallurgie des métaux nucléaires (Orsay).
M ^{me} CHARNIAU-POTTON	T	Evol. des êtres organisés.	BROCHARD ...	T	Physique (P.C.B.) (Orsay).
POSSOMPÉ ...	T	Zoologie.	CABANNES	T	Mécanique générale.
PULLMANN ...	T	Chimie quantique.	LESIEUR	T	Mathématiques I (Orsay).
TEILLAC	T	Physique nucl. et radio-activité (Orsay).	MAZET	T	Mécan. générale (Orsay).
TONNELAT	T	Biol. phys.-chim. (Orsay).	CAIRE		Géographie phys. et géol. dynamique.
VILLE	T	Econométrie.	COMOLET		Mécanique des fluides.
WILLEMART ..	T	Chimie (P. C. B.).	CORABŒUF ...	T	Physiol. anim. (Orsay).
DODE	T	Chimie (Orsay).	DELLOUE	T	Physique de l'exosphère.
FREYMANN	T	Recherches physiques.	GORENFLOT ..		Botanique II (Orsay).
GUINOCHET ...	T	Biol. vég. (S. P. C. N.) (Orsay).	HOUILLOIN ...		Biologie animale (P.C.B.).
ROLLET	T	Chimie minérale.	J. JULLIEN ...		Chimie (S.P.C.N.) (Orsay).
M ^{lle} JOSIEN ..	T	Chimie (S. P. C. N.).	MALGRANGE ...	T	Technique math. de la phys. (Orsay).
CHEVALLEY ..	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes.	OLIVIER		Anthropologie.
ARNOULT	T	Electronique (Orsay).	NOZERAN	T	Botanique II (Orsay).
CHAPELLE	T	Physique I (Orsay).	BLANC-LAPIERRE ..	T	Phys. (E. N. S.) (Orsay).
DELANGE	T	Mathématiques I (Orsay).	CHEVAUGEON ..	T	Botanique (Orsay).
DENY	T	Mathémat. gén. (Orsay).	KAHANE	T	Mathématiques (Orsay).
GERMAIN	T	Mécan. théor. des fluides.	SAMUEL	T	Mathém. (E. N. S.) féminines.
G. LUCAS	T	Géologie.	KOURGANOFF ..	T	Astronomie (Orsay).
ALLARD	T	Chimie physique.	THIRY	T	Mécanique céleste.
BERTHELOT ..	T	Physique des particules fondamentales (Orsay).	ABELES		Physique (S. P. C. N.).
BRICARD	T	Météorologie et phys. de l'atmosphère.	AMAT	T	Physique (P. C. B.).
M ^{me} ALBE-FESSARD ...	T	Psycho-physiol.	AUBOIN	T	Géologie.
FRIEDEL	T	Phys. des solides (Orsay).	Mme BENOIT-GUEUTAL ..	T	Phys. nucléaire et radio-activité (Orsay).
M. JULIA	T	Etudes des moléc. compl.	BOUGIS		Biologie marine (Villefranche-sur-Mer).
LENDER	T	Biol. animale (S. P. C. N.) (Orsay).	BRUHAT	T	Mathématiques (M. P. C.).
MAGAT	T	Physico-chimie des radio-éléments.	BRUNN	T	Géologie hist. (Orsay).
M ^{lle} QUINTIN ..	T	Electrochimie.	CHABBAL	T	Phys. (M. G. P.) (Orsay).
MONOD	T	Chimie du métabolisme.	DEHEUVELS ..	T	Mathématique propé.
BENOIT	T	Physiol. animale (Orsay).	D'ESPAGNAT ..	T	Physique théor. (Orsay).
DE POSSEL ...	T	Analyse numérique.	FURON	T	Géologie (S. P. C. N.).
CHARLOT	T	Chimie analytique.	Mme GANS ...	T	Génétique.
LEMÉE	T	Ecologie vég. (Orsay).	GENEVES		Biologie végétale (P.C.B.).
GUÉRIN	T	Chimie (M. P. C.) (Orsay).	GUILBERT		Physique (C.U.S. Orléans).
M. CHATELET ..	T	Chimie (P. C. B.).	HUPE	T	Pétrographie.
JEAN	T	Physique nucl. (Orsay).	HOLLANDE ...	T	Biologie générale.
MATTLER	T	Physique (S. P. C. N.).	LIONS	T	Analyse numérique.
BERGERARD ..	T	Zoologie (Orsay).	MAITTE	T	Chimie (P. C. B.).
BERTHEIN	T	Electronique (Orsay).	MEYER		Physique propédeutique.
BOUSSIÈRES ..	T	Radiochimie.	NICOLAS		Géologie appliquée.
Mme COUTURE ..	T	Thermo et méca. phys.	PANIGEL		Biologie générale.
ELLENBERGER ..	T	Géol. des grandes régions du globe.	RAVIER		Pétrographie.
FRANC	T	Biologie animale (P.C.B.).	ROSEAU	T	Méc. théor. des fluides.
SCHNELL		Botanique tropicale.	ROUBINE		Electronique.
STOLKOWSKI ..	T	Physiologie végétale.	SILBER	T	Chimie (P. C. B.).
ACHER	T	Chimie biologique.	UEBERSFELD ..	T	Electronique.
BAUDOIN	T	Biologie animale (P. C. B.).	YVON	T	Théories physiques.
BEAUMONT ...		Biologie anim. (S.P.C.N.).	HERVÉ	T	Mathématiques.
BLAMONT		Géophysique-ionosphère.	NÉRON	T	Mathématique (M. P. C.) (Orsay).
BOURREAU	T	Botanique.			
D. CURIE		Physique (M. G. P.).			
DURAND-DELGA ..	T	Géologie.			

Professeurs (suite).

M^{me} PECKER-
WIMEL T Astrophysique.
BALKANSKY Physique (M. P. C.).
LE CORRE T Electricité.
DELCROIX T Physique théor. (Orsay).
GOURDIN Phys. théor. des hautes
énergies (Orsay).
LEHMANN T Phys. exp. des hautes
énergies.
NATAF T Phys. nucléaire et radio-
activité (Orsay).
ECHALIER Biologie animale (P.C.B.).
BARRAUD Physiologie cellulaire.
LIORET Physiolog. végét. (Orsay).
DARS Géologie struc. et géol.
appliquée.
CAMEFORT T Botanique (Agré.).
VICHNIEWSKY T Mécanique industrielle.
BLAQUIÈRE Electronique (Orsay).
ARNOUS T Physique théorique.
TATIBOUET Chimie (C. S. U. Orléans).
MALLIAVIN T Mathém. propéd. (Orsay).
GAUDEMAR Chimie propéd.
PEREZ Y JORBA Phys. exp. des hautes
énergies (Orsay).
DAVID T Chimie (Agré. Orsay).
BROUSSE T Mécanique théorique.
ROSCH T Astronomie.
GUY T Physique expérimentale.
LAZARD Mathématiques (M. P. C.).
P. MOREL Physique (M. P. C.).
ARSAC Programmation.
LEFEBVRE Chimie (M. P. C.).
CHAPEVILLE .. Biochimie.
BENOIT Physique (C. P. E. M.).
RIO Chimie (C. P. E. M.).
JAUZEIN Géologie (E. M. S.).
G. PRÉVOST .. Biol. vég. (C. P. E. M.).
P. FAVARD Biol. animale (C. P. E. M.).
VILKAS Chimie (C. P. E. M.).

M^{lle} FICINI ... Chimie (C. P. E. M.).
LEQUEUX Astronomie.
COHEN TAN-
NOUDJI Physique (M. P. C.).
TAVERNIER ... Physique (C. P. E. M.).
M^{me} ROIZEN .. Physique (C. P. E. M.).
M. DURAND ... Biol. animale (S. P. C. N.).
PASCAUD Physiologie.
M^{me} PETIT ... Biol. animale (C. P. E. M.).
BROUSSE Géologie (Orsay).
CAGNIAC Physique agrég. (Orsay).
LEBERRE Zoologie (Orsay).
SCHEFFER Microbiologie (Orsay).
DE GENNES ... Phys. des solides (Orsay).
RIOU Phys. nucl. exp. (Orsay).
CLAUSER Chimie biol. (Orsay).
CHEVALIER ... Physiol. animale (Orsay).
JANCOVICI ... Physique atom. (Orsay).
FALK-VAIRANT. Physique nucl. (Orsay).
FETIZON Chimie propéd. (Orsay).
CERF Mathématiques (Orsay).
LURCAT Physique.
RIGAUDY Chimie (S. P. C. N.).
SIGWALT Chimie (S. P. C. N.).
FOURNET Electricité générale.
COLLONGUES .. Chimie (C. P. E. N.).
DUBERT Biochimie.
LAVOREL Biol. physico-chimique.
F. MOREL ... Physiologie comparée.
TALBOT Génétique chimique.
M^{me} NOUGA-
RÈDE Botanique.
FRANÇOIS ... Zoologie.
IVANOFF Océanographie physique.
CADIOT Chimie organique.
BARUCH Physique propédeutique.
NOZIÈRES ... Physique générale.
BOK Physique propédeutique.
SLONIMSKI ... Génétique.

Le Secrétaire général..... R. POULAIN.

LES MÉCANISMES D'ÉCHANGES IONIQUES BRANCHIAUX CHEZ LES TÉLÉOSTÉENS LEUR RÔLE DANS L'OSMORÉGULATION

PAR

RENÉ MOTAIS ⁽¹⁾

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE PREMIER. — LES CONDITIONS DE MESURE DES ÉCHANGES D'ÉLECTROLYTES. CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES.	7
I. — <i>Système en état stationnaire</i>	7
A. — Poisson adapté à l'eau de mer	7
B. — Poisson adapté à l'eau douce	14
II. — <i>Système en état non stationnaire</i>	14
A. — Poisson adapté à l'eau douce	15
B. — Poisson soumis à une variation de salinité	15
CHAPITRE II. — MATÉRIEL ET MÉTHODES	18
I. — <i>Espèces utilisées</i>	18
A. — Poissons euryhalins	18
B. — Poissons sténohalins	18
II. — <i>Conservation des animaux</i>	19
III. — <i>Composition des milieux</i>	19
A. — Milieux d'adaptation	19
B. — Milieux de transfert	19

(1) Groupe de Biologie marine du Commissariat à l'Energie Atomique, Station zoologique, Villefranche-sur-Mer-06, France.

IV. — Mesure de l'excrétion urinaire.....	19
V. — Injection d'hormones ou de substances diverses	19
VI. — Prélèvement du sang.....	19
VII. — Radio-isotopes	20
VIII. — Mesure de l'espace sodium.....	20
IX. — Traitement des échantillons.....	20
X. — Mesure en continu de la radioactivité	21
XI. — Expression statistique des résultats.....	21
Liste des abréviations utilisées.....	21
CHAPITRE III. — CARACTÉRISTIQUES DES ÉCHANGES DE SODIUM ET DE CHLORE CHEZ DES POISSONS ADAPTÉS A DIFFÉRENTES SALINITÉS	22
I. — Caractéristiques de l'équilibre hydrominéral chez le flet et l'anguille adaptés à l'eau douce.....	22
A. — Réalisation pratique des mesures.....	22
B. — Intensité des échanges d'électrolytes.....	22
C. — Importance de l'excrétion urinaire dans ces échanges	23
D. — Mécanismes responsables de l'absorption du sodium et du chlore	25
II. — Caractéristiques de l'équilibre hydrominéral chez divers poissons en eau de mer et eaux de mer diluées	27
A. — Réalisation pratique des mesures de f_s	27
B. — Réalisation pratique des mesures de f_e	28
C. — Intensité des échanges d'électrolytes en eau de mer	28
D. — Intensité des échanges d'électrolytes dans des eaux de mer diluées	30
E. — Discussion	30
III. — Conclusion	33
CHAPITRE IV. — MODIFICATIONS DES ÉCHANGES D'ÉLECTROLYTES CHEZ LE FLET SOUMIS A DES VARIATIONS DE SALINITÉ (RÉGULATION INSTANTANÉE ET RÉGULATION DIFFÉRÉE).....	34
I. — Evolution du flux sortant de sodium au cours du transfert EM-ED et ED-EM.....	36
A. — Transfert EM-ED	36
B. — Transfert ED-EM	38
II. — Evolution du flux sortant de sodium au cours du transfert EM-ED isotonique à EM.....	40
III. — Influence de la variation de salinité du milieu externe sur l'intensité des flux entrant et sortant de sodium	42
A. — Représentation cinétique de f_s au cours du transfert EM-EM1/4.....	42
B. — Importance de la régulation instantanée en fonction de la variation de salinité.....	43
IV. — Comportement comparé du sodium et du chlore	45
A. — Comportement du flux sortant de chlore au cours du transfert EM-ED et EM-ED isotonique à EM	45
B. — Comportement des flux sortants de sodium et de chlore au cours du transfert dans des solutions de Na_2SO_4 et CaCl_2	45
C. — Conclusion	46
V. — Discussion	46
Conclusion	48
CHAPITRE V. — IMPORTANCE RESPECTIVE DU MÉCANISME DE DIFFUSION PAR ÉCHANGE ET DU SYSTÈME ENDOCRINEN DANS L'OSMORÉGULATION DU FLET	50
I. — Mise en évidence d'un mécanisme de diffusion par échange dans la branchie du flet.....	50
Etude cinétique de la combinaison sodium-transporteur	52
II. — Signification biologique de ce mécanisme. Son rôle dans les régulations instantanées et différées	54
III. — Intervention du système endocrinien dans l'osmorégulation du flet.....	55
A. — Action de l'ocytocine	55
B. — Action de l'aldostérone	57
Conclusions	58

CHAPITRE VI. — ETUDE COMPARÉE D'UN AUTRE EURYHALIN : L'ANGUILLE	60
I. — Evolution du flux sortant de sodium au cours des transferts EM-ED et ED-EM.....	60
A. — Transfert EM-ED	60
B. — Transfert ED-EM	61
II. — Evolution du flux sortant de sodium au cours des transferts EM-ED isotonique à EM.....	61
III. — Influence de la variation de la salinité du milieu externe sur l'intensité des flux sortants de sodium	62
IV. — Comportement du flux sortant de chlore au cours du transfert EM-ED.....	62
Conclusion	63
CHAPITRE VII. — LES ÉCHANGES DE SODIUM CHEZ UN POISSON STÉNOHALIN, LE SERRAN.....	64
I. — Evolution du flux sortant de sodium et de chlore au cours du transfert EM-ED.....	64
II. — Evolution du flux sortant de sodium au cours du transfert EM-ED isotonique à EM.....	65
III. — Evolution comparée des flux entrant et sortant de sodium en fonction de la salinité.....	67
IV. — Existence d'une régulation secondaire lors du transfert EM-EM $^{1/4}$ et EM $^{1/4}$ -EM	68
Conclusion	68
CHAPITRE VIII. — LES MÉCANISMES DE L'EURYHALINITÉ. RÔLE DE LA DIFFUSION PAR ÉCHANGE.....	70
I. — Schéma de l'euryhalinité chez les poissons Téléostéens	70
II. — Validité de ce schéma.....	72
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	77
BIBLIOGRAPHIE	79

AVANT-PROPOS

Commencé au Musée océanographique de Monaco, ce travail a été presque entièrement réalisé dans le Département de Biologie du C. E. A. (Groupe de Biologie marine, Station zoologique, Villefranche-sur-Mer).

Nous tenons à remercier vivement M. le Professeur COURSAGET, Chef du Département de Biologie, qui nous a accueilli dans son département et a bien voulu accepter notre détachement à Villefranche.

M. le Professeur FONTAINE, Membre de l'Institut, a su bien souvent nous prodiguer aide et encouragement. Qu'il nous soit permis, en cette occasion, de lui exprimer notre profonde gratitude.

Nous assurons de notre attachement M. le Professeur MOREL, à qui nous devons notre initiation aux problèmes de cinétique biologique. Ses conseils et ses critiques nous ont permis de mener à bien notre travail.

M. le Professeur JOST nous a fait l'honneur d'accepter de présider notre jury de thèse. Nous tenons à lui exprimer notre vive reconnaissance.

C'est pour nous un très agréable devoir de remercier le Docteur J. MAETZ. Isolé scientifiquement, nous avons d'abord trouvé en lui un guide amical et sûr. Par la suite, il a su rompre cet isolement en nous accueillant lors de la création du Groupe de Biologie marine et en nous confiant deux stagiaires étrangers F. GARCIA ROMEU et G. CAMPANINI avec qui nous avons collaboré. Qu'il veuille croire à notre très amicale et très profonde reconnaissance.

L'amitié qui nous lie au Docteur F. GARCIA ROMEU est un des résultats les plus heureux de huit mois de travail en commun dans le cadre de cette étude.

M. le Professeur BOUGIS a permis et favorisé notre installation à Villefranche. C'est pour nous l'agréable occasion de l'en remercier.

Nos remerciements vont également à ceux qui, alors que nous étions dans des conditions matérielles difficiles, nous ont aidé : M. GARNAUD dont l'amitié et les conseils nous ont été précieux, MM. THOMMERET, GALLIOT et BOCLET, du Centre scientifique de Monaco, qui, en mettant leur matériel électronique à notre disposition pendant deux ans, nous ont permis de commencer ce travail.

INTRODUCTION

La perméabilité des membranes biologiques aux électrolytes est une des propriétés fondamentales des structures vivantes. Entre chaque cellule d'un organisme et le milieu qui la baigne, entre l'organisme et le milieu extérieur, des échanges s'établissent. En dépit de ces échanges, de part et d'autre de la membrane les milieux conservent une composition et une concentration ionique différentes.

L'analyse des processus d'échange et de leurs contrôles est donc d'un intérêt général. Il nous a semblé que les poissons euryhalins, qui peuvent vivre indifféremment en eau de mer ou en eau douce, constituaient un matériel d'étude particulièrement favorable. L'épithélium branchial de ces poissons doit en effet être capable de « travailler » dans deux directions opposées suivant le milieu d'adaptation : en eau douce il absorbe certains ions à partir du milieu externe très dilué, en eau de mer il excrète ces mêmes électrolytes contre le gradient de concentration chimique.

Nous avons choisi d'aborder l'étude de ces mécanismes d'échanges ioniques branchiaux en utilisant des indicateurs nucléaires, le radiosodium (^{24}Na) et le radiochlore (^{36}Cl). En effet, contrairement aux méthodes classiques (photométrie de flamme, potentiométrie) qui n'apportent d'informations que sur le bilan des échanges, la technique isotopique renseigne, grâce à la mesure des flux unidirectionnels, sur la perméabilité effective de la membrane. En outre, elle permet d'obtenir une représentation cinétique des processus d'adaptation du poisson avec le milieu extérieur.

L'objet de ce travail est double :

— d'une part, mesurer l'intensité et les caractéristiques des échanges d'électrolytes, qui existent entre un poisson et le milieu dans lequel il vit, c'est-à-dire *étudier chez divers Téléostéens sténohalins et euryhalins, les mécanismes de la perméabilité branchiale*;

— d'autre part, suivre les modifications que subissent ces échanges lorsque l'animal est soumis à des changements de milieu, c'est-à-dire *étudier les facteurs qui contrôlent la perméabilité branchiale*.

En conclusion de cette étude sur l'analyse des différents mécanismes de la perméabilité nous discuterons de leur rôle et de leur importance relative dans l'osmorégulation des Téléostéens.

CHAPITRE PREMIER

LES CONDITIONS DE MESURE DES ÉCHANGES D'ÉLECTROLYTES. CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES

La diversité des abords expérimentaux mis en œuvre, qui nous ont été dictés par le but poursuivi ou imposés par les possibilités techniques, entraîne pour chaque type d'expérience une analyse différente du comportement des indicateurs nucléaires.

Dans ce chapitre nous rappelons certaines considérations théoriques (SOLOMON, 1960) qui faciliteront, au cours de l'exposé des résultats, l'interprétation des courbes expérimentales.

Un poisson et l'eau de l'aquarium dans lequel il est placé peuvent être considérés en première approximation comme un système de 2 compartiments entre lesquels les ions Na^+ et Cl^- sont échangés. Si la quantité d'électrolytes qui apparaît dans un compartiment compense la quantité de ce même électrolyte qui le quitte, la concentration reste constante quelle que soit l'importance des transferts (vitesse de renouvellement) et le système est dit en « état stationnaire ». Lorsque le poisson est adapté au milieu, on peut admettre *a priori* que ce système est en état stationnaire puisque les concentrations plasmatiques du sodium et du chlore sont constantes. En revanche, un poisson qui change brusquement de milieu perd ou gagne des électrolytes et n'est plus en état d'équilibre avec le milieu.

Nous envisagerons tout d'abord les modalités de la distribution d'un indicateur nucléaire dans un système en état stationnaire. Cette étude nous permettra d'interpréter les courbes expérimentales obtenues avec des poissons adaptés à un milieu déterminé et d'en déduire l'intensité des échanges existant entre le poisson et le milieu extérieur.

La distribution d'un indicateur dans un système en état non stationnaire est difficile à analyser car elle dépend de paramètres variables. Nous exposons dans une seconde partie les solutions numé-

riques que, de ce fait, nous avons dû utiliser pour étudier les échanges d'électrolytes existant entre le milieu extérieur et un poisson non adapté à ce milieu.

I. — SYSTÈME EN ÉTAT STATIONNAIRE

Nous avons présenté schématiquement, sur la figure 1, les divers types de courbes que l'on doit observer lorsque l'on suit, soit dans le poisson, soit dans le milieu extérieur, l'évolution de la concentration de l'isotope radioactif (^{24}Na ou ^{36}Cl) introduit dans l'un ou dans l'autre de ces 2 compartiments.

Les solutions pratiques adoptées doivent tenir compte à la fois de l'importance relative des compartiments en présence (schématisés par des rectangles de surface variable) et de l'intensité des flux entre les compartiments (schématisés par des flèches de longueur variable).

A. — Poisson adapté à l'eau de mer.

Dans le cas d'un poisson marin de 100 g plongé dans un volume d'eau de mer limité (1 litre par exemple), la quantité d'électrolytes du compartiment externe (500 mEq) est très grande par rapport à celle du compartiment interne (5 mEq). L'intensité des échanges entre ces compartiments est grande (MULLINS, 1951; MOTAIS, 1961 *a*). On peut mesurer la quantité d'ions qui pénètre dans l'animal par unité de temps (flux d'entrée), ou celle qui quitte le poisson par unité de temps (flux de sortie). Le système étant en état stationnaire, ces valeurs doivent être identiques.

1° MESURE DU FLUX DE SORTIE

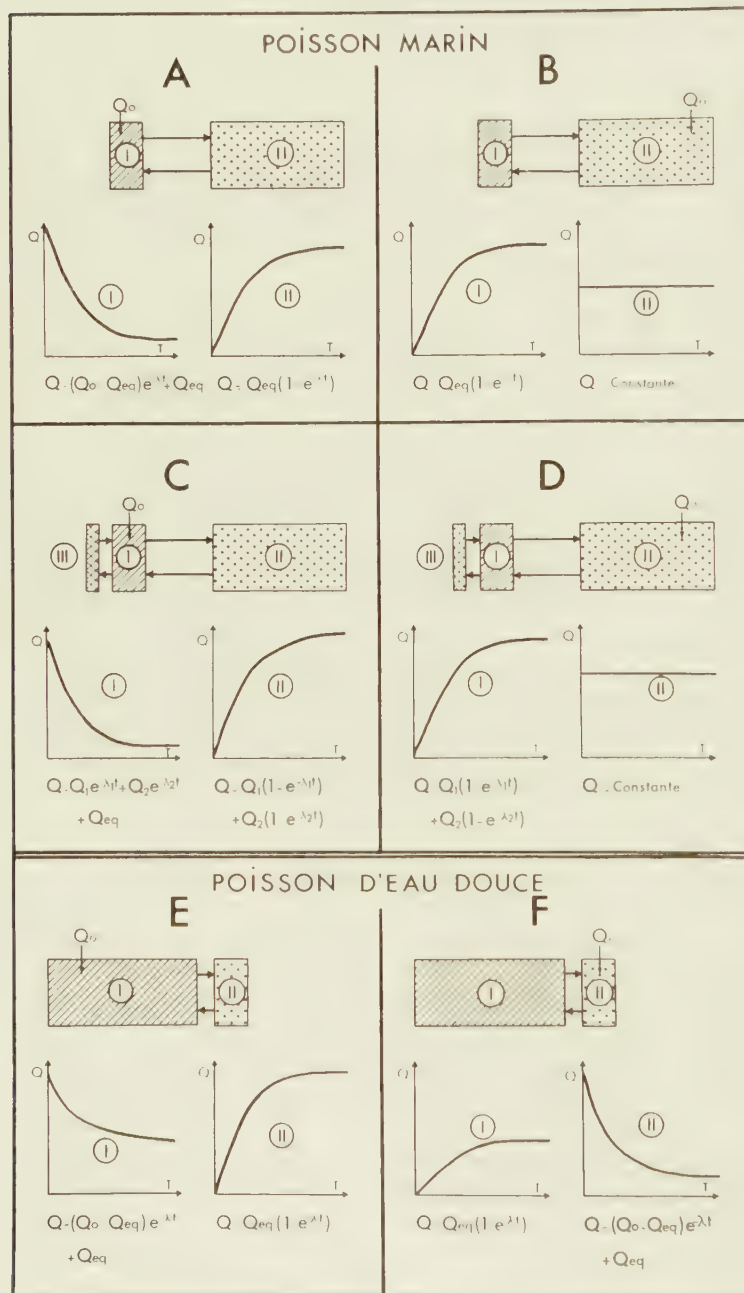
a) Système à 2 compartiments
(fig. 1 A).

Le sodium et le chlore étant essentiellement extracellulaires, il peut paraître légitime d'assimiler le poisson à un seul compartiment. Mais le comportement du radiosodium et du radiochlore ne permet

pas cette assimilation et l'analyse des courbes expérimentales nous a conduit à considérer le poisson comme formé de 2 compartiments. L'ensemble du système « poisson-milieu extérieur » est donc constitué de 3 compartiments. Cependant, avant d'aborder les modalités de la distribution d'un indicateur dans un tel système, il nous a semblé préférable, pour la clarté de l'exposé, d'étudier cette distribution dans un système à 2 compartiments.

L'indicateur nucléaire est introduit dans le com-

partiment poisson I. Q_0 est la quantité d'indicateur injectée. On peut mesurer la disparition de la radioactivité dans le compartiment I (poisson) ou son apparition dans le compartiment II (milieu extérieur).



EVOLUTION DE LA CONCENTRATION DU TRACÉUR DANS I. — *Forme de la courbe.* — La quantité Q de l'indicateur dans I varie suivant une fonction exponentielle simple partant d'une valeur initiale maximale Q_0 et tendant vers une valeur d'équilibre Q_{eq} non nulle. Cette fonction exponentielle est de la forme :

$$Q = (Q_0 - Q_{eq}) \exp(-\lambda t) + Q_{eq} \quad [1]$$

En effet, si nous appelons

- V_1 : le volume du compartiment I (en ml),
- V_2 : le volume du compartiment II (en ml),
- a_1 : la concentration de l'élément stable dans I (en mEq/l),
- a_2 : la concentration de l'élément stable dans II (en mEq/l),
- f_{12} : le flux de sodium ou de chlore (en mEq/h) passant de I à II,

FIG. 1. — Systèmes en état stationnaire.

Etude théorique des courbes traduisant l'évolution de la concentration de l'indicateur nucléaire dans le compartiment I (poisson) ou dans le compartiment II (milieu extérieur) après introduction dans I (figures A, C, et E) ou dans II (B, D et F).

L'importance relative des compartiments est représentée schématiquement par la surface des rectangles; la grandeur des flèches dépend de l'intensité des échanges.

A, B, E et F: système à deux compartiments.

C et D: système à trois compartiments, le poisson étant considéré comme constitué des deux compartiments I et III.

A, B, C, D: poisson adapté à l'eau de mer.

E et F: poisson adapté à l'eau douce.

f_{21} : le flux de sodium ou de chlore (en mEq/h)
passant de II à I,

Q : la quantité de l'indicateur (en imp/mn)
dans I au temps t ,

$$\text{pour } t = \infty \quad Q_{eq} = \frac{Q_0 a_1 V_1}{a_2 V_2 + a_1 V_1} \quad [2]$$

A un temps t quelconque la quantité d'indicateur qui sort de I est :

$$\frac{Q}{a_1 V_1} f_{12} \Delta t,$$

et la quantité qui pénètre est :

$$\frac{Q_0 - Q}{a_2 V_2} f_{21} \Delta t.$$

La variation ΔQ de Q est donc :

$$\Delta Q = -\frac{Q}{a_1 V_1} f_{12} \Delta t + \frac{Q_0 - Q}{a_2 V_2} f_{12} \Delta t \quad \text{puisque } f_{12} = f_{21},$$

en passant à la limite on a

$$\frac{dQ}{dt} = -\left(\frac{1}{a_1 V_1} + \frac{1}{a_2 V_2}\right) f_{12} Q + \frac{Q_0}{a_2 V_2} f_{12}.$$

Cette équation différentielle s'intègre et, compte tenu de [2], on trouve pour l'équation de la courbe représentative des variations de Q en fonction du temps

$$Q = (Q_0 - Q_{eq}) \exp \left[-\left(\frac{1}{a_1 V_1} + \frac{1}{a_2 V_2}\right) f_{12} t \right] + Q_{eq}. \quad [3]$$

Cette équation est bien identique à [1] avec

$$\lambda = \left(\frac{1}{a_1 V_1} + \frac{1}{a_2 V_2}\right) f_{12}.$$

Analyse de la courbe. — En portant en coordonnées semi-logarithmiques $\log (Q - Q_{eq})$ en fonction du temps, on obtient à partir de [3] une droite représentée par l'équation

$$\ln (Q - Q_{eq}) = -\left(\frac{1}{a_1 V_1} + \frac{1}{a_2 V_2}\right) f_{12} t + \ln (Q_0 - Q_{eq}), \quad [4]$$

droite dont la pente est

$$\lambda = \left(\frac{1}{a_1 V_1} + \frac{1}{a_2 V_2}\right) f_{12}.$$

Cette pente peut être calculée graphiquement. Dans le cas du poisson marin $\frac{1}{a_2 V_2}$ peut être négligé devant $\frac{1}{a_1 V_1}$, car les masses d'électrolytes en présence sont très différentes, et ainsi la pente représente la fraction du sodium échangeable du poisson qui se renouvelle par unité de temps

$$\left(\lambda = \frac{f_{12}}{a_1 V_1}\right).$$

Ce taux de renouvellement (*rate constant*) a la dimension de l'inverse d'un temps et permet le calcul de f_{12} , connaissant $a_1 V_1$.

Expériences réalisées suivant ce principe. — Pour suivre l'évolution de la radioactivité dans le poisson il faut, soit faire des prises de sang successives pendant toute la durée de la manipulation ce qui est pratiquement irréalisable, soit suivre la radioactivité d'une partie aliquote du poisson (région caudale par exemple) à l'aide d'un scintillateur à INa. Cette solution est réalisable à condition :

1° que le poisson puisse être maintenu dans une position fixe au-dessus du scintillateur pendant toute la durée de l'expérience (environ 70 heures);

2° que l'indicateur nucléaire utilisé soit un émetteur β ou γ d'énergie suffisante pour permettre la mesure à distance;

3° que la radioactivité apparaissant dans l'eau de mer ne perturbe pas les comptages (bruit de fond nul).

Cette technique n'a donc pu être utilisée qu'avec des poissons plats (le flet) pour mesurer les échanges de Na (le ^{36}Cl est un émetteur de faible énergie), l'aquarium étant alimenté avec de l'eau de mer courante (bruit de fond nul). Mais alors le compartiment II est infini. On peut négliger les ions marqués qui reviennent de II vers I. La courbe de décroissance de la radioactivité dans I est entièrement conditionnée par le flux f_{12} et [3] s'écrit alors

$$Q = Q_0 \exp (-\lambda t) \quad \text{avec } \lambda = \frac{f_{12}}{a_1 V_1},$$

fonction exponentielle qui tend vers zéro.

EVOLUTION DE LA CONCENTRATION DU TRACEUR DANS II. — La quantité Q de l'indicateur apparaissant dans le milieu extérieur II varie suivant une fonction exponentielle de la forme.

$$Q = Q_{eq} [1 - \exp (-\lambda t)] \quad \text{avec } \lambda = \left(\frac{1}{a_1 V_1} + \frac{1}{a_2 V_2}\right) f_{12}.$$

La concentration initiale dans II est nulle, la courbe est croissante et la concentration d'équilibre est

$$Q_{eq} = \frac{Q_0 a_2 V_2}{a_1 V_1 + a_2 V_2}.$$

En portant en coordonnées semi-logarithmiques $(Q_{eq} - Q)$ en fonction du temps, on obtient une droite représentée par l'équation

$$\ln (Q_{eq} - Q) = -\left(\frac{1}{a_1 V_1} + \frac{1}{a_2 V_2}\right) f_{12} t + \ln Q_{eq}. \quad [5]$$

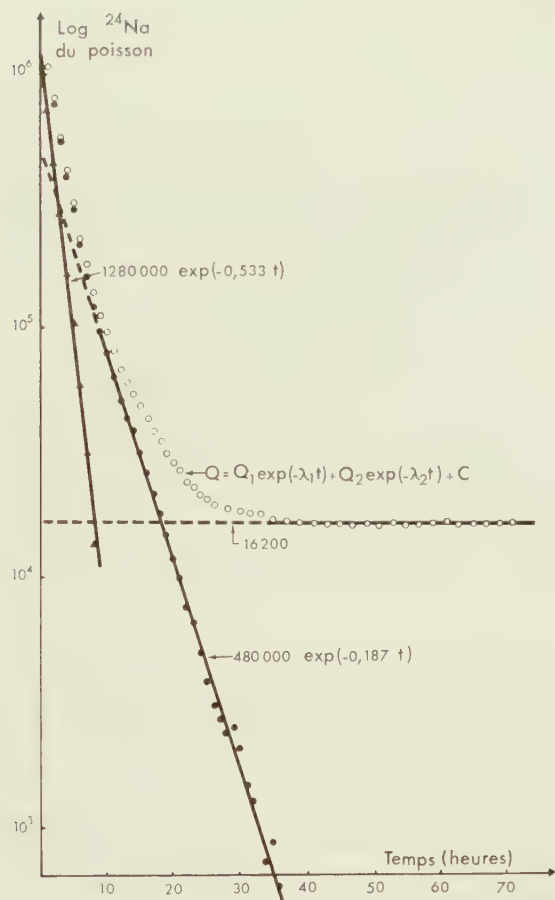


FIG. 2. — Mesure de la fraction de sodium échangeable renouvelée par unité de temps, λ_1 , chez un flet adapté à l'eau de mer : étude de la courbe de « décharge radioactive » du poisson.

Courbe expérimentale (corrigée de la décroissance physique du radiosodium) montrant l'évolution de la concentration du ^{24}Na dans le poisson, le compartiment externe étant infini (eau de mer courante). Cette courbe est décrite par la somme de deux fonctions exponentielles et un terme constant (qui est vraisemblablement un troisième compartiment : voir le texte).

$$Q = Q_1 \exp(-\lambda_1 t) + Q_2 \exp(-\lambda_2 t) + C.$$

Les points expérimentaux sont représentés par des cercles ouverts.

Méthode d'analyse graphique. — On détermine la valeur de la constante C (ici $C = 16\,200$). On porte en coordonnées semi-logarithmiques ($Q - C$) en fonction du temps ($\bullet$). On constate que seuls les derniers points expérimentaux sont alignés (ici à partir de la huitième heure). Les échanges les plus lents dominent alors, les compartiments les plus rapides étant déjà en équilibre.

On extrapole la droite jusqu'à l'axe des ordonnées. L'ordonnée à l'origine est $(Q_2 - C)$ et la pente de la droite est $-\lambda_2$ (ici $\lambda_2 = 0,187$). On porte ensuite le logarithme de la différence entre Q et la valeur d'extrapolation en ce point de la droite extrapolée. Tous les nouveaux points obtenus s'inscrivent sur une droite ($\blacktriangle$).

Cette droite est parallèle à celle représentée par l'équation [4]. Pour la raison énoncée précédemment, la pente représente le taux de renouvellement du sodium échangeable du poisson et permet le calcul de f_{12} .

Ce type d'expérience peut être réalisé avec n'importe quel poisson et avec des émetteurs de faible ou de grande énergie, à condition d'utiliser un compteur approprié.

b) Système à 3 compartiments (fig. 1 C).

Les conditions expérimentales sont rigoureusement les mêmes qu'en A mais nous admettons que le poisson est constitué de 2 compartiments.

— Le compartiment I, correspondant à la majeure partie de la masse des électrolytes du poisson, est ouvert à la fois sur II et sur III.

— Le compartiment III, de moindre importance, est ouvert sur I avec des flux f_{31} et f_{13} beaucoup plus petits que f_{12} et f_{21} . Si $f_{31} = f_{13} \geq f_{21}$, les compartiments III et I pourraient être considérés comme un compartiment unique homogène.

EVOLUTION DE LA CONCENTRATION DU TRACEUR DANS I. — Nous avons ici l'exemple d'un système de trois compartiments en parallèle. La fonction qui représente la variation de la quantité de l'indicateur dans I, compartiment dans lequel il a été introduit, est de la forme :

$$Q = Q_1 \exp(-\lambda_1 t) + Q_2 \exp(-\lambda_2 t) + Q_{eq}, \quad [6]$$

La pente de cette droite, λ_1 , mesure le taux de renouvellement de I (ici $\lambda_1 = 0,533$).

Par décomposition graphique on obtient donc

$$Q = 1\,280\,000 \exp(-0,533 t) + 480\,000 \exp(-0,187 t) + 16\,200.$$

Il reste à vérifier si l'équation trouvée est satisfaisante. On calcule, d'après cette équation, des valeurs numériques et on compare les valeurs observées et les valeurs calculées. Nous avons admis le critère suivant : les différences E entre ces valeurs ne doivent jamais dépasser

$$3E = 3 \sqrt{\frac{\sum (e^2)}{n}} \quad \text{où } E \text{ est l'erreur quadratique}$$

moyenne et n le nombre d'observations. Dans cette expérience, nous trouvons ($e_{\max}$) $< 3E = 48\,561$. L'équation est donc satisfaisante. (Expérience du 3 mars 1964; 15° C.)

avec

$$Q_1 + Q_2 + Q_{eq} = Q_0,$$

$$\lambda_1 = \left(\frac{1}{a_1 V_1} + \frac{1}{a_2 V_2} \right) f_{12}; \frac{1}{a_2 V_2} \text{ pouvant être négligé devant } \frac{1}{a_1 V_1},$$

$$\text{on a } \lambda_1 = \frac{f_{12}}{a_1 V_1},$$

$$\lambda_2 = \left(\frac{1}{a_1 V_1} + \frac{1}{a_3 V_3} \right) f_{13}.$$

Expériences réalisées suivant ce principe. — Pour les raisons précisées dans le paragraphe précédent (mesure à distance de la radioactivité d'une partie aliquote du poisson), cette technique ne peut être appliquée qu'à l'étude des échanges de sodium chez le flet placé dans un aquarium en eau de mer courante (compartiment II infini). La figure 2 représente une courbe expérimentale obtenue dans ces conditions et la décomposition graphique permettant le calcul de λ_1 et de f_{12} .

Le compartiment II étant infini, [6] se simplifie et donne : $Q = Q_1 \exp(-\lambda_1 t) + Q_2 \exp(-\lambda_2 t)$, fonction exponentielle qui tend vers zéro. Le terme constant observé dans la figure 2 traduit vraisemblablement l'existence d'un troisième compartiment poisson de très faible dimension et à renouvellement très lent.

Il faut noter que dans ces conditions expérimentales on ne mesure pas I mais I + III. Ceci peut entraîner une erreur appréciable sur λ_2 (SOLOMON, 1960) suivant l'importance relative de $a_1 V_1$ et $a_2 V_2$ et de λ_1 et λ_2 . Le but de ce travail étant de mesurer le taux de renouvellement des électrolytes entre le poisson et l'eau de mer (λ_1) et non les modalités d'échange entre les différents compartiments internes (λ_2), cette cause d'erreur peut être négligée.

EVOLUTION DE LA CONCENTRATION DU TRACEUR DANS II (MILIEU EXTÉRIEUR). — La quantité Q de l'indicateur apparaissant dans II varie suivant une fonction de la forme :

$$Q = Q_1 [1 - \exp(-\lambda_1 t)] + Q_2 [1 - \exp(-\lambda_2 t)], \quad [7]$$

avec

$$\lambda_1 = \left(\frac{1}{a_1 V_1} + \frac{1}{a_2 V_2} \right) f_{12}; \frac{1}{a_2 V_2} \text{ pouvant être négligé devant } \frac{1}{a_1 V_1},$$

$$\text{on a } \lambda_1 = \frac{f_{12}}{a_1 V_1},$$

$$\lambda_2 = \left(\frac{1}{a_1 V_1} + \frac{1}{a_3 V_3} \right) f_{13}.$$

Pour calculer λ_1 , qui est la valeur recherchée, on décompose graphiquement la courbe expérimentale.

Ce type d'expérience permet la mesure des échanges de chlore et de sodium chez n'importe quel poisson à condition d'utiliser un compteur approprié.

La figure 3 illustre un exemple de courbe expérimentale obtenue avec le ^{24}Na chez le flet et les différentes possibilités d'analyse graphique. La figure 4 représente une courbe expérimentale obtenue avec le ^{36}Cl chez le flet et la décomposition graphique permettant le calcul de λ_1 et λ_2 .

On remarquera que l'importance relative du deuxième « compartiment poisson » est beaucoup plus faible dans le cas du chlore que dans celui du sodium. Si ce compartiment représente le sodium et le chlore intracellulaire, cette différence s'expliquerait aisément, le chlore étant presque uniquement extra-cellulaire (MANERY, 1954).

2° MESURE DU FLUX D'ENTRÉE

Systèmes à 2 ou à 3 compartiments (fig. 1 B et D).

L'indicateur nucléaire est introduit dans le milieu extérieur II. L'évolution de la concentration de l'indicateur ne peut être suivie que dans I (poisson), car dans II cette concentration reste à peu près constante. En effet, pour que les mesures soient précises il faut que les variations de radioactivité en fonction du temps ($\Delta Q/\Delta t$) soient grandes par rapport à la quantité de radioactivité Q se trouvant dans II. Dans le cas présenté ici, la masse d'électrolytes de II est si grande par rapport à celle de I que, malgré l'intensité des échanges, $\frac{\Delta Q/\Delta t}{Q}$ est très petit (ce qui correspond à une fraction très faible des électrolytes du compartiment II renouvelée par unité de temps).

Dans I, la courbe d'apparition de l'indicateur est de la forme $Q = Q_{eq} [1 - \exp(-\lambda t)]$ si le poisson est constitué d'un seul compartiment (figure 1 B).

Si le poisson est constitué de deux compartiments (fig. 1 D), on obtient une courbe de la forme

$$Q = Q_1 [1 - \exp(-\lambda_1 t)] + Q_2 [1 - \exp(-\lambda_2 t)].$$

Pour suivre l'apparition de l'indicateur dans I (poisson) on peut, comme pour le flux sortant, mesurer une partie aliquote du poisson. Mais dans ce cas, outre les limites d'utilisation de la technique déjà signalées (émetteur β ou γ d'énergie suffisante, poisson calme), le bruit de fond dû à l'eau de mer radioactive (compartiment II) est important et rend les

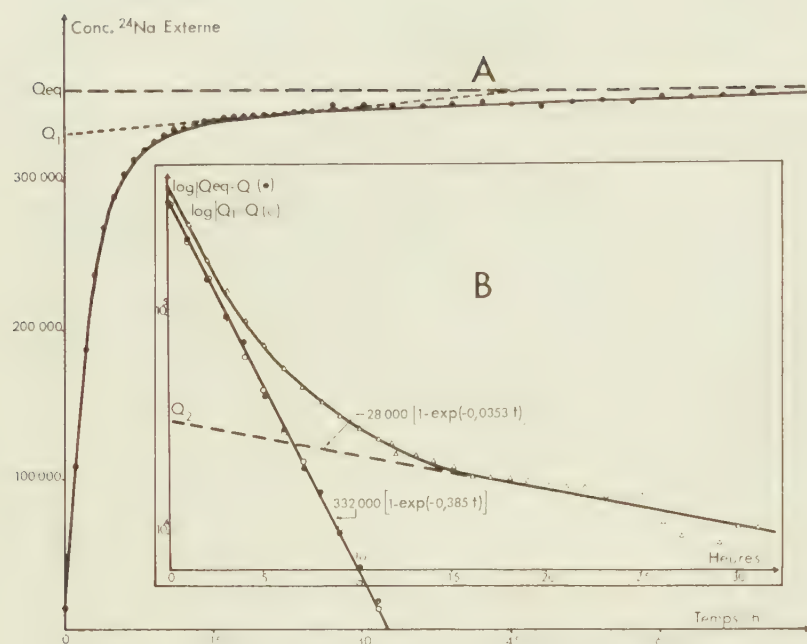


FIG. 3. — Mesure de la fraction de sodium échangeable, renouvelée par unité de temps, λ_1 , chez un flet adapté à l'eau de mer : étude de la courbe de « charge radioactive » du milieu externe.

A. Courbe expérimentale (corrigée de la décroissance physique du radio-sodium) montrant l'évolution de la concentration du ^{24}Na dans le compartiment externe.

Cette courbe est décrite par la somme de deux fonctions exponentielles.

$$Q = Q_1 [1 - \exp(-\lambda_1 t)] + Q_2 [1 - \exp(-\lambda_2 t)]$$

(pour les symboles voir le texte).

Ceci implique que le poisson est constitué de deux compartiments sodium.

B. Méthodes d'analyse graphique de la courbe. — Première méthode : La quantité de radioactivité dans le

milieu externe à l'équilibre, Q_{eq} , est déterminée en traçant l'asymptote de la courbe A (dans cet exemple : $Q_{eq} = 336\,000$). On obtient la courbe B en portant en ordonnées le logarithme de la différence entre chaque point de A et Q_{eq} . L'asymptote de cette nouvelle courbe est tracée et prolongée jusqu'à l'origine, donnant ainsi Q_2 (ici $Q_2 = 28\,000$). La pente de cette droite représente $-\lambda_2$ (ici $\lambda_2 = 0,0353$). Cette droite, qui a pour équation $28\,000 [1 - \exp(-0,0353 t)]$, est alors soustraite de la courbe B. On obtient une nouvelle droite représentée par des cercles noirs ($\bullet$), de pente λ_1 , et qui a pour équation $332\,000 [1 - \exp(-0,385 t)]$.

Ainsi

$$Q = 332\,000 [1 - \exp(-0,385 t)] + 28\,000 [1 - \exp(-0,0353 t)].$$

Il reste à vérifier si l'équation trouvée est satisfaisante. On calcule, d'après cette équation, des valeurs numériques et on compare les valeurs observées et les valeurs calculées. Nous avons admis le critère suivant : les différences ε entre ces valeurs ne doivent jamais dépasser $3E = 3 \sqrt{\frac{\sum (\varepsilon^2)}{n}}$ où E est l'erreur quadratique moyenne et n le nombre d'observations. Dans cette expérience, nous trouvons $3E = 35\,700$ et aucune différence n'atteint cette valeur. L'équation est donc satisfaisante.

Deuxième méthode : Lorsque les compartiments les plus rapides sont en équilibre, les échanges les plus lents dominent alors : les points expérimentaux s'inscrivent sur une droite après environ 15 heures. On extrapole la droite jusqu'à l'axe des ordonnées : l'ordonnée à l'origine est Q_1 . On porte le logarithme des différences entre chaque point de A et le point correspondant de la droite extrapolée. Les nouveaux points obtenus (cercles ouverts $\circ$) s'inscrivent sur une droite. La pente de cette droite, λ_1 , mesure le taux de renouvellement du compartiment I. On remarque que les résultats obtenus par cette technique et par la première méthode sont rigoureusement identiques.

Troisième méthode : Ces deux méthodes exigent de maintenir les animaux en expérience pendant plusieurs jours. Il s'est avéré parfois préférable d'adopter la méthode suivante. Le flux sortant radioactif $\Delta Q/\Delta t$ (avec $\Delta t = 2$ heures) est mesuré de 15 minutes en 15 minutes et le logarithme de ces valeurs est porté sur un graphique, en fonction du temps. On obtient ainsi une droite dont la pente λ_1 est calculée graphiquement comme précédemment. (Expérience du 3 mars 1964; 15° C.)

FIG. 4.

Mesure de la fraction de chlore échangeable renouvelée par unité de temps, λ , chez un flet adapté à l'eau de mer : étude de la courbe de charge radioactive du milieu externe.

A. Courbe expérimentale montrant l'évolution de la concentration du ^{36}Cl dans le milieu externe. Elle est décrite par la somme de 2 fonctions exponentielles

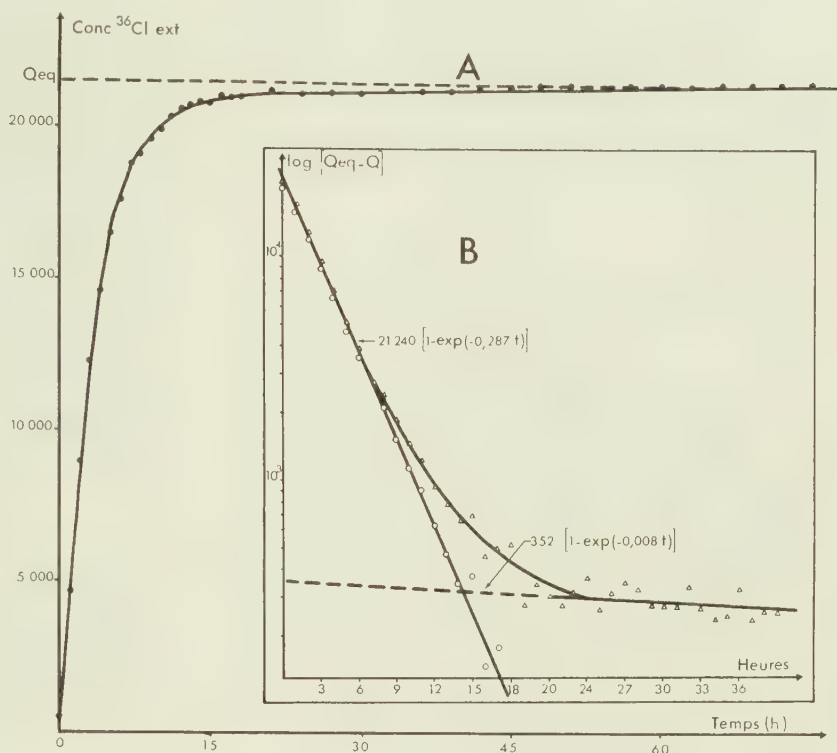
$$Q = Q_1[1 - \exp(-\lambda_1 t)] + Q_2[1 - \exp(-\lambda_2 t)].$$

B. Méthode d'analyse graphique de la courbe. La courbe a été analysée suivant la première méthode décrite dans la figure 3.

On obtient ainsi

$$Q = 21\,240[1 - \exp(-0,287 t)] + 352[1 - \exp(-0,008 t)].$$

(Expérience du 20 mars 1964 ; 15-16° C.)



mesures imprécises. Cette technique n'a pas été utilisée dans ce travail. On pourrait aussi, théoriquement, faire des prises de sang successives, mais cela est en fait irréalisable.

Pour obvier à ces impossibilités techniques, renonçant à suivre l'évolution de la radioactivité en fonction du temps dans I ou dans II, nous avons simplement mesuré la quantité d'indicateur ayant pénétré dans le poisson après que celui-ci ait été en contact, pendant un temps très court (1/2 heure), avec une eau de mer radioactive. Dans ces conditions, on peut assimiler le début de la fonction exponentielle de « charge du poisson » à une droite, et donc considérer le flux entrant comme une fonction linéaire du temps pendant cette période courte. Seuls les flux entrants de sodium ont été mesurés.

Pour évaluer la quantité ΔQ d'indicateur ayant pénétré dans le poisson (la concentration initiale d'indicateur dans le poisson est nulle), il faut mesurer la radioactivité d'un volume déterminé de plasma et multiplier par l'espace sodium du poisson. Nous verrons dans le chapitre II qu'après une demi-heure de séjour en eau de mer marquée le radiosodium ne s'est pas encore réparti dans tout l'espace sodium du poisson. Pour la mesure de ΔQ il convient donc au préalable de déterminer expérimentalement un volume apparent de distribution une

demi-heure correspondant à l'espace de distribution de l'indicateur après une demi-heure de séjour en eau de mer marquée. Il faut également mesurer la radioactivité spécifique (RAS) du sodium de l'eau de mer. La RAS, pour un élément donné (le sodium par exemple), est le rapport du nombre d'atomes radioactifs au nombre total d'atomes. Les atomes radioactifs étant en quantité impondérable, la somme des atomes est équivalente au nombre d'atomes stables. La RAS s'exprime donc en quantité de radioactivité par unité de poids ou par molécule. La radioactivité spécifique du sodium de l'eau de mer (RAS) s'obtiendra en mesurant la radioactivité et la teneur en sodium d'un volume déterminé d'eau de mer.

Le flux entrant horaire peut alors être calculé par la formule

$$f = \frac{\Delta Q \times 2}{\text{RAS}_{\text{ext}}}$$

Mais, étant donné l'importance des échanges de sodium chez le poisson marin, il convient de tenir compte du flux sortant radioactif (une fraction de la quantité d'indicateur ayant pénétré dans le poisson est éliminée avec le flux sortant). Pour calculer cette fraction, on mesure la RAS du sodium plasmatique en fin d'expérience (RAS_{int}). On admet que la RAS moyenne du sodium du flux sortant pendant toute la durée de l'expérience est égale à la moitié de la RAS du sodium plasmatique en fin d'expérience (au début de l'expérience la RAS est nulle). Connaissant la valeur du flux sortant de sodium du poisson en eau de mer (mesuré par une des techniques

précédemment décrites), la valeur du flux sortant radio-actif est donnée par la formule

$$\Delta Q = f_e \times \frac{RAS_{ext}}{2}.$$

Le flux entrant réel en mEq/h/100 g est donc

$$f_e = \frac{2 \Delta Q}{RAS_{ext}} + \frac{RAS_{int}}{2 RAS_{ext}} \times f_e.$$

B. — Poisson adapté à l'eau douce.

Dans le cas d'un poisson de 100 g plongé dans 1 litre d'eau douce, la quantité d'électrolytes du compartiment externe (0,5 mEq) est petite par rapport à celle du compartiment interne (5 mEq). Nous avons donc une situation inverse de celle que nous venons d'analyser (poisson marin). De plus, les échanges entre le poisson et l'eau sont faibles et du même ordre de grandeur que ceux qui peuvent exister entre les compartiments internes. Dans ces conditions, le poisson apparaît comme un compartiment unique homogène.

1° MESURE DU FLUX DE SORTIE

(fig. 1 E).

L'indicateur est introduit dans le compartiment I (poisson) où la masse d'électrolytes est la plus grande :

— La mesure est faite dans II : nous sommes ramené au cas de la mesure dans I (fig. 1 B). Nous avons une courbe croissante d'allure exponentielle, mais la pente est très faible car les échanges sont peu intenses. La précision, de ce fait, n'est pas très bonne.

— La mesure est faite dans I : nous sommes ramené au cas de la mesure dans II (fig. 1 B). Dans ce cas $\frac{\Delta Q/\Delta t}{Q}$ est très petit et la précision est encore très faible. Cette technique a cependant été utilisée, nous le verrons ultérieurement, pour suivre l'évolution du flux sortant de sodium chez les flets passant d'eau de mer en eau douce et inversement.

2° MESURE DU FLUX D'ENTRÉE

(fig. 1 F).

Nous introduisons l'indicateur dans II, compartiment externe où la quantité d'électrolytes est la plus petite.

— La mesure est faite dans I : nous sommes ramené au cas de la mesure dans II (fig. 1 A). Ici encore la faible intensité des échanges se traduit par une imprécision des mesures expérimentales.

— La mesure est faite dans II. Les échanges, qui sont peu importants entre I et II, n'intéressent qu'une fraction très faible des électrolytes internes, mais, en revanche, représentent une fraction assez importante des électrolytes externes. En conséquence, la concentration de l'indicateur nucléaire dans le milieu externe II diminue rapidement ($\frac{\Delta Q/\Delta t}{Q}$ est grand)

et la mesure du taux de disparition permet théoriquement le calcul de l'intensité des échanges dans de bonnes conditions. Nous avons, en principe, une fonction exponentielle de la forme

$$Q = (Q_0 - Q_{eq}) \exp(-\lambda t) + Q_{eq}.$$

Cette fonction exponentielle est obtenue lorsque le système est en état stationnaire, c'est-à-dire lorsque les flux entrant et sortant sont égaux. L'expérience montre que ce cas est rare.

II. — SYSTÈME EN ÉTAT NON STATIONNAIRE

Il peut paraître en effet légitime de considérer qu'un poisson adapté et son milieu constituent un système en état stationnaire. En fait, à une échelle de temps courte, cette assimilation n'est souvent pas justifiée, car le poisson « perd » ou « gagne » temporairement des ions sodium ou chlore (flux net négatif ou positif).

Dans ces conditions, les deux compartiments du système ne sont plus en équilibre et les méthodes précédemment décrites pour la détermination de l'intensité des échanges sont d'autant moins applicables que le flux net d'ions est important par rapport aux masses d'électrolytes échangeables.

Dans le cas de poissons adaptés à l'eau de mer, compte tenu de la masse relative des électrolytes des compartiments externe et interne, le flux net de sodium ou de chlore peut être négligé et le système peut être considéré comme étant en équilibre. D'ailleurs, l'expérience prouve que la radioactivité du poisson évolue effectivement en fonction du temps suivant une fonction exponentielle (fig. 2, 3 et 4).

Dans le cas où le poisson est adapté à l'eau douce,

le flux net d'électrolyte que l'on observe est, par contre, loin d'être négligeable devant la masse de sodium ou de chlore du compartiment externe. Il s'ensuit que la méthode préconisée dans le paragraphe précédent (mesure du compartiment II, fig. 1 F), consistant à introduire le traceur dans le compartiment externe II et à mesurer sa disparition, conduit à des équations différentielles difficiles à intégrer, car on ignore la fonction d'évolution du système qui dépend de facteurs biologiques non contrôlés. *A fortiori*, lorsque nous modifions brusquement la composition ionique du milieu externe (changement de milieu), le système « poisson-milieu extérieur » n'est plus en état stationnaire. Nous allons envisager les solutions numériques susceptibles d'être appliquées à ces différentes situations.

A. — Poisson adapté à l'eau douce.

La technique utilisée est décrite par MAETZ (1956). On introduit l'indicateur dans le compartiment externe (II) et on mesure sa disparition dans ce compartiment (fig. 1 F, mesure dans II).

Ne pouvant intégrer les équations différentielles, on fait une résolution numérique par point. Le principe de la technique est le suivant : on suit, en fonction du temps, simultanément l'évolution de la quantité de l'électrolyte stable (E) et de son isotope radioactif (Q) introduit comme indicateur. Le flux d'entrée en chaque point est donné par la formule

$$f_{21} = \frac{\Delta Q / \Delta t}{Q/E},$$

où Q/E est la RAS du sodium externe.

La variation horaire de l'électrolyte stable dans II donne le flux net f_n ($f_n = \Delta E / \Delta t$). Connaissant f_{21} et f_n en chaque point, on peut déduire le flux de sortie f_{12} ($f_{12} + f_{21} = f_n$).

B. — Poisson passant brusquement dans des milieux de salinité différente de celle du milieu d'adaptation.

Quand on modifie brusquement le milieu externe (substitution de l'eau douce par de l'eau de mer, par exemple), le déséquilibre entre les 2 compartiments est particulièrement important, notamment à

cause des modifications rapides que subissent les flux unidirectionnels. Dans un tel système, les équations prévues précédemment ne peuvent pas non plus s'appliquer. Plusieurs solutions ont été adoptées pour mesurer les échanges d'électrolytes dans ces conditions.

1° MESURE DU FLUX DE SORTIE

L'indicateur est introduit dans le compartiment I (poisson).

a) Evolution

de la concentration du traceur dans I.

La fraction du sodium échangeable du poisson, renouvelée par unité de temps, peut être mesurée graphiquement à partir de la courbe de « décharge radioactive du poisson » quelle que soit la composition du milieu externe, si ce compartiment est infini.

$$\text{En effet } \Delta Q / \Delta t = f_{12} \frac{Q}{a_1 V_1}$$

$$\text{d'où } \lambda_1 = \frac{f_{12}}{a_1 V_1} = \frac{\Delta Q / \Delta t}{Q}.$$

Connaissant $a_1 V_1$ on peut expliciter f_{12} , le flux de sortie.

Cette technique permet de suivre facilement l'évolution de l'intensité du flux sortant pendant plusieurs heures. En revanche, elle ne peut être appliquée qu'à l'étude des échanges de sodium chez le flet (voir les raisons invoquées précédemment).

Nous avons montré que ces conditions expérimentales n'étaient pas entièrement satisfaisantes pour mesurer les échanges de sodium lorsque le poisson est en eau douce puisque alors le taux de disparition de l'indicateur interne, correspondant à celui du renouvellement de sodium, est trop faible pour que la précision des mesures soit bonne. Nous avons cependant adopté ce montage dans certaines expériences de passage EM → ED ou ED → EM (voir chap. IV, fig. 11 et 15) pour deux raisons :

— d'une part, le changement de milieu est réalisé simplement en modifiant le circuit d'alimentation de l'aquarium. On évite ainsi tout « effet de choc » autre que le changement de milieu que l'on veut étudier;

— d'autre part, nous verrons qu'au cours du passage d'eau de mer en eau douce, ou inversement, le taux de renouvellement du sodium varie d'un facteur supérieur à 100. Lorsque nous voulons suivre l'évolution de ce taux en fonction du temps, plutôt que de mesurer des valeurs absolues, l'imprécision des mesures réalisées en eau douce ne constitue pas un obstacle.

*b) Evolution
de la concentration du traceur dans II
(milieu extérieur) : mesures comparatives.*

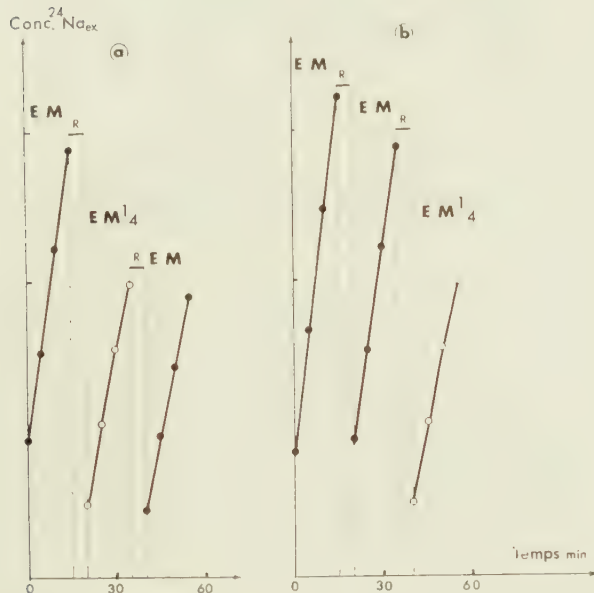


FIG. 5. — Mesure de l'intensité relative du flux sortant de sodium chez le serran après transfert d'eau de mer en eau de mer 1/4. (Expérience du 4 mai 1965.)

a) La vitesse d'apparition du radiosodium est comparée successivement en EM, en EM¹/₄, puis à nouveau en EM. Entre chaque période l'aquarium, le poisson et le compteur à circulation sont rincés pendant 5 minutes. On compare les pentes successives a_1 , a_2 , a_3 des courbes d'apparition (fonction linéaire en première approximation)

$$r = \frac{2a_2}{a_1 + a_3} = 0,88.$$

b) La vitesse d'apparition du radiosodium est comparée successivement en EM, en EM puis en EM¹/₄

$$r = \frac{a'_1 + a'_3}{a'_2} = 0,92.$$

Il n'y a pas de fonction mathématique simple qui décrive l'apparition du traceur dans II lorsque le système est en déséquilibre.

Il reste cependant possible d'estimer avec une bonne approximation le nouveau flux observé pendant les 15 à 30 minutes qui suivent le transfert, par comparaison au flux mesuré dans le milieu d'adaptation avant le transfert.

Après injection du traceur dans la cavité intrapéritonéale le poisson est placé dans un volume connu de son milieu d'adaptation, et l'apparition de l'isotope dans ce

milieu est suivie pendant 15 à 30 minutes suivant les mêmes modalités que pour les poissons en état stationnaire. On obtient le début de la courbe de charge radioactive du milieu extérieur (fonction exponentielle). On constate (fig. 3) que le début de cette courbe peut être assimilé à une droite, ce qui implique que le taux d'apparition du traceur dans le milieu extérieur pendant cette période est pratiquement constant. Le flux sortant radioactif (f_s^*) est proportionnel à la pente (a_1) de la droite. Le milieu de référence est remplacé brusquement par le même volume d'un milieu de salinité différente (rinçage de l'installation : maximum 5 minutes). Une nouvelle courbe de charge du milieu extérieur est obtenue (durée des mesures 15 à 30 minutes). Ici encore le taux d'apparition du traceur est constant et la pente a_2 de la nouvelle droite est proportionnelle à f_s^* dans le nouveau milieu. a_1/a_2 représenterait le rapport des flux vrais successifs (c'est-à-dire l'intensité relative de f_s dans le nouveau milieu) si la RAS de l'élément dans le milieu intérieur n'avait pas varié au cours de l'expérience.

Deux techniques différentes ont été utilisées pour tenir compte de cette variation de la RAS_{int}. Elles sont illustrées par les figures 5 a et 5 b concernant la mesure du flux sortant de sodium chez le serran transféré d'EM en EM¹/₄.

Dans l'une de ces techniques (fig. 5 a) les flux radioactifs sont mesurés pendant 3 périodes successives de 15 minutes : une période témoin en EM, une période de mesure comparative en EM¹/₄ et à nouveau une période témoin en EM. Trois pentes a_1 , a_2 et a_3 sont ainsi obtenues.

On admet :

1° que le flux sortant vrai reste identique pendant les périodes 1 et 3. La différence de pente entre a_1 et a_3 reflète donc la variation de RAS_{int} durant l'expérience;

2° que la RAS_{int} pendant la période 2 est proportionnelle à $\frac{a_1 + a_3}{2}$. L'intensité relative du flux sortant dans

le nouveau milieu est donc $r = \frac{2a_2}{a_1 + a_3}$.

Dans la seconde technique (fig. 5 b), les flux radioactifs sont mesurés successivement en EM, milieu d'adaptation (pente a'_1), à nouveau en EM (pente a'_2) puis en EM¹/₄ (pente a'_3). La différence entre les pentes a'_1 et a'_2 traduit la variation de RAS_{int}. En EM cette variation est de l'ordre de 15 % en moyenne pour des périodes de 15 minutes, et de 25 % pour des périodes de 30 minutes, aussi bien chez le serran que chez le flet. On admet que la diminution relative de RAS_{int} est la même au cours du transfert dans le nouveau milieu que pendant le premier transfert dans le milieu témoin.

Ainsi $r = \frac{a'_1 + a'_3}{a'_2}$ correspond au rapport des flux sortants

vrais. Cette seconde technique est parfois moins satisfaisante que la première, car la diminution relative de la RAS_{int} peut être plus importante si la salinité du nouveau milieu est plus élevée que celle du milieu d'adaptation, et moins importante si la salinité est plus faible.

Suivant les cas, on sous-estime ou on surestime la variation de RAS_{int}. Cependant, la comparaison de ces deux techniques sur 8 serrans transférés d'EM en EM¹/₄ donne des résultats identiques (différence : $3,75\% \pm 2,35\%$ non statistiquement différente de 0).

Pour un milieu d'adaptation donné, un lot de 10 à

12 poissons a été utilisé. A partir de ce milieu d'adaptation, la mesure des flux dans des milieux de différentes salinités a porté sur des groupes de 3 à 6 poissons. Si le même groupe de poissons devait être utilisé à nouveau, un intervalle de 6 heures au moins séparent les tests successifs. Les rapports $r_1, r_2, \dots$, ont été mesurés pour les différentes salinités. Les valeurs moyennes de ces intensités relatives ont été données avec l'erreur standard de la moyenne, en admettant que ces rapports aient une distribution gaussienne. Pour chaque milieu de transfert, la valeur absolue moyenne de f_s a été également exprimée (en mEq/h/100 g); f_s est obtenu en faisant le produit de r par la valeur moyenne du flux sortant observé dans le milieu d'adaptation (dédit de λ).

EXPÉRIENCES DE TRANSFERT « RAPIDE ». — Dans une série d'expériences de transfert d'EM en ED, la technique qui vient d'être décrite ci-dessus a été légèrement modifiée :

1° pour mesurer la rapidité du réajustement du flux sortant après ce transfert. Il convenait donc de réduire considérablement le temps mort correspondant au rinçage. Il a été réduit de 5 minutes à 1 minute, 30 secondes, et même 10 secondes.

2° pour mesurer simultanément f_s^* et le flux net de sodium du poisson pendant le passage en ED. Il convenait d'assurer un bon rinçage de l'installation.

La modification consiste essentiellement en l'utilisation de deux installations identiques (aquarium en circuit fermé; pompe de même débit; détecteur de même rendement; espace mort entre l'aquarium et le détecteur correspondant à un retard de 3 secondes). Le prélèvement des comptages est effectué automatiquement toutes les minutes, toutes les 30 secondes ou toutes les 10 secondes. Les aquariums contiennent le même volume : l'un d'eau de mer, l'autre d'eau douce. Le poisson est transféré de l'aquarium 1 (EM) dans l'aquarium 2 (ED) après rinçage rapide dans un troisième aquarium intermédiaire contenant de l'eau douce courante. Ceci permet d'éliminer la plus grande partie de l'EM et du ^{24}Na externes. A la fin de l'expérience, le poisson est remis dans l'aquarium 1 (EM), le circuit fermé de cette installation ayant été rincé pendant la deuxième période. Les figures 13 et 36 illustrent une expérience de ce genre réalisée sur le flet et sur le serran. Le temps de comptage est ici de 30 secondes. Pendant la deuxième période (eau douce), des échantillons de l'eau de l'aquarium ont été prélevés toutes les 2 minutes et la concentration du sodium dosée au photomètre de flamme. Sur les figures 13 et 36 on a porté $[\text{Na}]_{\text{ext}}$ en fonction du temps. Cette courbe permet la mesure du flux net de sodium. On remarquera qu'en eau douce, dans ces conditions expé-

mentales, le flux entrant de sodium peut être négligé (quelques expériences ont d'ailleurs été réalisées en eau distillée).

Ce type d'expérience a permis de vérifier certaines suppositions faites pour le calcul des flux.

1° Les valeurs $r = \frac{f_s \text{ED}}{f_s \text{EM}}$ calculées à partir des pentes a_1, a_2 et a_3 , suivant l'une des deux méthodes décrites précédemment, doivent permettre le calcul de $f_s \text{ED}$ connaissant $f_s \text{EM}$. La valeur moyenne de $f_s \text{EM}$ peut être déterminée, chez les animaux adaptés à EM, par la mesure de la fraction de sodium échangeable renouvelée (λ).

On verra, au cours de l'exposé des résultats, que cette valeur calculée de $f_s \text{ED}$ (obtenue par une méthode isotopique) correspond bien à la valeur de $f_s \text{ED}$ obtenue par la mesure du flux net de sodium (méthode non isotopique).

2° Le rapport du flux sortant radioactif au flux sortant vrai $\frac{f_s^*}{f_s} = \frac{f_s^*}{f_n}$, pendant le séjour en eau douce, doit être égal à la RAS du sodium interne du poisson. Ceci a été vérifié pour le flet dans deux expériences. A la fin de la troisième période (retour en EM), la RAS du sodium plasmique a été trouvée inférieure à $\frac{f_s^*}{f_s}$ de 7 % dans un cas et de 23 % dans l'autre.

Cette différence moyenne de 15 % est admissible à cause de la dilution de RAS_{int} par le sodium non marqué qui pénètre dans le poisson pendant la période 3.

La comparaison de $\frac{f_s^*}{f_s}$ et RAS_{int} dans des expériences comme celle de la figure 36 permet de vérifier que, dans le cas du serran, le flux sortant est modifié de façon irréversible après la période ED.

Au contraire, chez le flet, le réajustement du flux sortant est réversible si la période ED n'excède pas 30 minutes (voir fig. 12). C'est la raison pour laquelle la première méthode décrite ci-dessus n'est pas applicable dans le cas du serran transféré en ED, $r = \frac{2a_2}{a_1 + a_3}$ correspondant à une surestimation importante de l'intensité relative du flux vrai. La seconde méthode a donc été préférée dans ce cas. Il faut noter que $f_s \text{ED}$, calculé à partir de r obtenu par cette seconde méthode, correspond à $f_s \text{ED}$ mesuré effectivement au photomètre de flamme (flux net).

2° MESURE DU FLUX D'ENTRÉE (INDICATEUR INTRODUIT DANS II, COMPARTIMENT EXTÉRIEUR.)

La technique est la même que celle employée pour la mesure de f_e dans un système en état stationnaire, mais le poisson est placé pendant une demi-heure dans un milieu de salinité différente de celle de son milieu d'adaptation. Pour la correction du flux sortant radioactif, on prend pour valeur du flux sortant celle obtenue par la technique des mesures comparatives dans les mêmes conditions expérimentales.

CHAPITRE II

MATÉRIEL ET MÉTHODES

A la lecture des considérations théoriques, il apparaît que les conditions expérimentales sont nécessairement très différentes suivant les buts poursuivis. La réalisation pratique des mesures pour chaque type d'expérience sera décrite au cours de l'exposé des résultats. Dans ce chapitre nous dressons la liste des poissons utilisés et décrivons seulement les techniques communes à l'ensemble des expériences.

I. — ESPÈCES UTILISÉES

Les recherches ont porté sur 4 genres de Téléostéens euryhalins et sur un certain nombre de Téléostéens sténohalins.

A. — Poissons euryhalins.

La plupart des recherches ont été effectuées sur le flet (*Platichthys flesus* L.), poisson commun dans les estuaires et également en mer pendant la période de reproduction, c'est-à-dire en hiver (HARTLEY, 1947). Il supporte parfaitement tout changement brutal de milieu. Les animaux utilisés dans ce travail (plus de 500) pesaient de 80 à 330 g. Quelques expériences ont également été réalisées sur :

— l'anguille jaune (*Anguilla anguilla* L.), dont le comportement migratoire a fait l'objet de nombreuses études (CALLAMAND, 1943; FONTAINE et KOCH, 1950; FONTAINE, 1956). Les poissons utilisés pesaient de 60 à 150 g.

— le mulot (*Mugil cephalus* L.), qui s'avère être un très mauvais matériel d'étude, car il est émotif et

perd facilement ses écailles. Les mulots mis en expérience avaient un poids variant de 35 à 110 g.

— *Fundulus heteroclitus* (5 à 15 g). L'osmorégulation de ce poisson a été très étudiée par les auteurs américains et, notamment, par PICKFORD (1959).

B. — Poissons sténohalins.

La plupart des études ont porté sur des serrans (*Serranus scriba* et *Serranus cabrilla*) pesant de 30 à 80 g.

Nous avons également utilisé :

— des uranoscopes (*Uranoscopus scaber* L.) de 45 à 180 g;

— des sargues (*Diplodus annularis* L.) de 30 à 80 g;

— des gobies (*Gobius cruentatus* Gmelin) de 40 à 50 g;

— des rascasses (*Scorpaena porcus* L.) de 50 à 80 g;

— des castagnoles (*Chromis chromis* L.) de 7 à 10 g.

Tous ces poissons provenaient de la région de Villefranche-sur-Mer (A.-M.), sauf les flets, pêchés dans l'embouchure de la Loire en aval de Nantes (*) et expédiés par avion à Nice, les anguilles achetées sur le marché de Nice et provenant de Sète, et les *Fundulus* qui nous ont été expédiés des Etats-Unis.

(*) Nous remercions M. BEAUR qui s'est chargé de la pêche et de l'expédition des flets. Pendant les deux premières années de ce travail, les flets provenaient de la Station zoologique de Den Helder (Hollande), grâce à l'obligeance du P^r VERWEY et du D^r DUDOK VAN HEEL. Nous remercions vivement le D^r G. E. PICKFORD et le P^r SAWYER qui ont mis les *Fundulus* à notre disposition.

II. — CONSERVATION DES ANIMAUX

Les poissons ont été conservés en eau de mer courante (température 13 à 22° C selon les saisons) et nourris de moules ou de poisson.

III. — COMPOSITION DES MILIEUX DANS LESQUELS LES ÉCHANGES D'ÉLECTROLYTES ONT ÉTÉ MESURÉS

Les échanges ioniques branchiaux ont été mesurés soit sur des poissons adaptés à divers milieux, soit sur des poissons placés brusquement dans des liquides différents de leur milieu d'origine.

A. — Milieux d'adaptation.

Les milieux d'adaptation ont été l'eau de mer (EM), l'eau de mer diluée 2 ou 4 fois avec de l'eau douce (EM1/2 et EM1/4) et, pour certains poissons euryhalins, l'eau douce (ED). Les concentrations moyennes du Na et du Cl dans l'eau de mer ont été respectivement de 550 et 685 mEq/l, la pression de 1 000 mOsm.

Pour l'eau douce, la concentration a été de 0,45 mEq/l aussi bien pour le sodium que pour le chlore.

La température des divers milieux a été celle à laquelle les mesures de flux ont été effectuées (15 à 20° C). La durée d'adaptation a été au minimum de 5 jours. Les poissons n'ont pas été nourris pendant les 3 ou 4 jours précédant les mesures.

Pour alléger le texte, on conviendra de dénommer les poissons adaptés à l'eau de mer : poisson EM (exemple flet EM), ceux adaptés à l'eau de mer 1/4 : poisson EM1/4, etc.

B. — Milieux de transfert.

Les poissons ainsi adaptés ont subi des passages rapides dans des liquides différents du milieu d'origine : eau de mer diluée (EM3/4, EM1/2, EM1/4, EM1/6, EM1/8) ou eau douce (ED) ; solutions à même pression osmotique que l'eau de mer, mais contenant un ion imperméant (ion SO_4^{--} ou Ca^{++}) accompagnant l'ion Na^+ ou Cl^- : solution de sulfate de sodium (105 g de Na_2SO_4 , 1 OH_2O et 110 g de mannitol pour un litre), ou de chlorure de calcium (46 g de CaCl_2 , 2 H_2O et 60 g de mannitol pour un

litre), ou encore de l'eau douce additionnée de mannitol (180 g pour un litre) isotonique à l'eau de mer.

La durée de survie des poissons dans ces solutions artificielles est limitée et varie d'un poisson à l'autre. Pour le flet, 24 heures environ pour la solution de sulfate de sodium, 2 heures pour le chlorure de calcium, 4 à 6 heures pour l'eau douce additionnée de mannitol.

IV. — MESURE DE L'EXCRÉTION URINAIRE

L'urine a été recueillie hors de l'aquarium par un cathéter inséré dans la papille urinaire et ligaturé à la nageoire anale. La quantité d'urine recueillie au cours d'une période est déterminée par pesée. Outre le débit urinaire V (en ml/h/100 g), nous donnerons le taux de filtration glomérulaire estimé par la clearance à l'inuline C_{in} (en ml/h/100 g) et la clearance de l'eau libre C_{H_2O} , c'est-à-dire $V - \text{Cosm}$. (Cosm étant la clearance osmotique). Nous donnerons également l'indice de réabsorption d'eau $\frac{C_{H_2O}}{C_{in}}$ ainsi que la concentration du sodium urinaire.

V. — INJECTION D'HORMONES OU DE SUBSTANCES DIVERSES

L'injection de radiosodium ou de radiochlore est faite dans la cavité intrapéritonéale.

Les hormones ont été injectées dans le muscle dorsal soit au moment du changement de milieu, soit 6 heures avant le transfert. Les hormones utilisées ont été l'ocytine de synthèse (Syntocynon Sandoz) et l'aldostérone de synthèse (Ciba) (*).

Afin d'étudier les mécanismes responsables des échanges ioniques chez les euryhalins adaptés à l'eau douce, des injections de sulfate d'ammonium et de bicarbonate de soude ont été faites par l'intermédiaire d'un cathéter (PE 10) inséré dans la cavité intrapéritonéale.

VI. — PRÉLÈVEMENT DU SANG

Chez tous les animaux le sang est prélevé, sans anesthésie, par ponction dans la veine caudale à l'aide d'une seringue héparinée. Il est centrifugé immédiatement.

(*) Nous remercions le Professeur WETTSTEIN qui nous a fourni l'aldostérone.

VII. — RADIO-ISOTOPES

Deux radio-isotopes ont été utilisés : le ^{24}Na et le ^{36}Cl . Le radiosodium ($^{24}\text{NaCl}$) à la radioactivité spécifique de 50 à 250 mCi/g est fourni par le Département des Radioéléments de Saclay. Les doses utilisées sont de l'ordre de 25 μCi par 100 g d'animal pour les flux de sortie et de 2 mCi pour 10 litres d'eau de mer pour les flux d'entrée. Cette solution mère est diluée 2, 4, 6 ou 8 fois pour le flux d'entrée en milieu dilué. Pour le flux d'entrée en eau douce, on utilise une dose de l'ordre de 50 μCi /litre.

Le radiochlore (Na^{36}Cl , 800 $\mu\text{Ci/g}$) provient du Radiochemical Center Amersham. Les doses utilisées sont de l'ordre de 10 μCi par 100 g d'animal.

Les principales caractéristiques de la désintégration radioactive de ces deux indicateurs nucléaires sont les suivantes :

- période physique : 15 heures pour le Na, $3,08 \times 10^5$ ans pour le Cl;
- mode de désintégration : émission β γ pour le Na, émission β pour le Cl;
- énergie β (MeV) : 1,39 pour le Na; 0,714 pour le Cl;
- énergie γ (MeV) : 1,37 et 2,76 pour le Na.

Le ^{24}Na est donc un émetteur β et γ d'énergie suffisante pour permettre la mesure à distance, mais on doit effectuer des corrections pour la décroissance physique en utilisant le taux de décroissance exponentielle correspondant à la période.

VIII. — MESURE DE L'ESPACE SODIUM

Nous avons vu, dans les considérations théoriques, que pour calculer le flux sortant et le flux entrant il était nécessaire de connaître le volume V_1 du compartiment poisson.

Il s'agit là d'un volume théorique : il représente le volume qu'occuperait un ensemble homogène d'électrolyte de même nature (le sodium par exemple), ayant la même probabilité de remplacement pour un processus de renouvellement déterminé, si sa concentration était en tout point de ce volume égale à sa concentration plasmatique.

Or, l'expérience montre que le radiosodium qui pénètre dans l'organisme (soit par injection, soit par absorption branchiale) ne se répartit pas instantanément de façon homogène dans cet espace. Le « volume apparent de distribution » pour le sodium, qui est donc une variable en fonction du temps, a été déterminé chez le flet par 2 méthodes différentes.

L'une porte sur des flets ED qui sont placés dans un volume connu d'eau douce dont le sodium est marqué. Après un temps donné, on mesure la quantité de radio-sodium ayant pénétré dans le poisson et la radioactivité du plasma. Dans ces conditions expérimentales, le volume apparent de distribution pour le sodium a été trouvé égal à $19,1 \pm 2,3$ ml/100 g (4 animaux) après une demi-heure de séjour dans ce milieu et à $32,1 \pm 1,85$ ml/100 g (5 animaux) après un séjour de 24 heures.

La seconde utilise des flets EM ayant reçu une injection intramusculaire d'une quantité connue de radio-sodium et placés dans un volume connu d'eau de mer. Une à deux heures après l'injection, on mesure la radio-activité libérée dans le milieu externe et la radioactivité du plasma. On en déduit l'espace sodium qui a été trouvé égal à $34,2 \pm 3,5$ ml/100 g (8 animaux).

Ainsi la vitesse de répartition du radiosodium est très rapide puisque le volume apparent de distribution est identique 1 heure et 24 heures après son introduction.

Nous avons admis que ce volume (32 à 34 ml) à l'équilibre de distribution du ^{24}Na était l'espace sodium du poisson. Nous avons adopté la valeur 33 ml/100 g pour l'espace sodium et l'espace chlore de tous les poissons quel que soit le milieu d'adaptation. Ce chiffre avait été trouvé pour le poisson d'eau douce *Carassius* (MAETZ, 1956).

Cependant, dans les expériences destinées à mesurer le flux entrant, le poisson séjourne seulement une demi-heure dans le milieu dont le sodium est marqué. La valeur de 19 ml a été adoptée pour les calculs de flux entrant de sodium.

La répartition du ^{24}Na dans l'organisme ne retient pas sur la forme des courbes de « charge » ou de « décharge radioactive » si les expériences sont commencées une heure après l'injection du traceur, l'équilibre de distribution du radiosodium dans l'espace sodium étant alors atteint. En fait, la vitesse d'homogénéisation du radiosodium dans l'organisme est nettement plus rapide que l'intensité de ses échanges à travers la branchie.

IX. — TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS

Différentes déterminations ont été effectuées sur des échantillons de milieu extérieur, de plasma, de liquide intestinal ou d'urine.

1° Détermination de la pression osmotique : les pressions osmotiques ont été mesurées par la méthode cryoscopique avec l'appareil de LUCARAIN (1952) et sont exprimées en mOsm/l.

2° Détermination de la concentration du sodium : elle a été réalisée, après dilution appropriée, par spectrophotométrie de flamme, et exprimée en mEq/l.

3° Détermination de la concentration du chlore : elle a été obtenue par titration potentiométrique,

selon la technique de SANDERSON (1952). Les résultats sont exprimés en mEq/l.

4° Détermination de la concentration de l'inuline : nous avons utilisé la réaction à la diphénylamine après hydrolyse en milieu chlorhydrique (ROLF et coll., 1949).

5° Détermination du radiosodium : pour mesurer la RAS du sodium de divers échantillons (eau de mer, eaux de mer diluées, plasma, liquide intestinal), nous avons mesuré la radioactivité à l'aide d'un cristal puits à INa activé au thallium. Des corrections ont été effectuées pour le bruit de fond radioactif et pour la décroissance physique.

X. — MESURE EN CONTINU DE LA RADIOACTIVITÉ

Les courbes individuelles de renouvellement du sodium chez les poissons marins sont obtenues en suivant pendant plusieurs jours l'évolution de la radioactivité du poisson à l'aide d'un scintillateur à INa, ou en suivant l'apparition de la radioactivité dans le milieu externe grâce à un compteur à circulation (tube de polythène enroulé autour d'un scintillateur à INa).

L'obtention d'un grand nombre de mesures est souhaitable si l'on veut déterminer avec précision la valeur de Q_{eq} . Ces expériences de longue durée nous ont incité à adopter un système automatique d'enregistrement des résultats.

Pendant les premières années de ce travail, la concentration du radiosodium était directement inscrite sur un millivoltmètre enregistreur MECI connecté à l'installation de comptage par l'intermédiaire d'un intégrateur électronique.

Depuis deux ans, l'enregistrement de la radioactivité a été remplacé par une installation de prélèvement automatique des comptages à intervalles de temps réguliers (généralement 5 minutes) avec transcription sur machine imprimante IBM par l'intermédiaire d'un bloc transcodeur. Cet ensemble permet une plus grande précision de mesure en supprimant notamment la dérive due à l'intégrateur et les décalages d'origine à chaque changement de sensibilité. Dépourvu de toute inertie, il s'est avéré précieux lorsque nous avons étudié les changements brusques de milieu.

La concentration du radiochlore externe peut être suivie également avec cet ensemble de comptage, mais on utilise alors un compteur β à circulation constitué d'un photomultiplicateur 53 AVP (la radiotechnique) surmonté d'une cellule étanche à la lumière fabriquée dans un cylindre en matière plastique scintillante S.P.F., creusé d'une cavité en spirale dans laquelle circule l'eau de l'aquarium (ISTIN, 1964).

XI. — EXPRESSION STATISTIQUE DES RÉSULTATS

1° SYSTÈME EN ÉTAT STATIONNAIRE

L'étude des courbes de « charge radioactive » du milieu extérieur, ou de « décharge radioactive » du poisson, conduit à la mesure de la fraction d'électrolyte renouvelée par unité de temps λ . Les mesures sont exprimées en % par heure et les valeurs moyennes sont données avec l'erreur standard de la moyenne. Cependant, cette dispersion statistique peut ne pas avoir de signification, car il s'agit de fractions dont la distribution n'est pas gaussienne.

A partir de λ , les flux sont calculés en faisant le produit de λ par la masse d'électrolyte échangeable, $a_1 V_1$ (les deux termes, a_1 et V_1 , étant considérés comme des constantes).

Les flux sont exprimés en mEq/h/100 g. Les valeurs moyennes sont données sans erreur standard de la moyenne.

Les flux entrants, obtenus directement par prise de sang, sont exprimés en mEq/h/100 g et les valeurs moyennes sont données avec l'erreur standard de la moyenne.

2° SYSTÈME EN ÉTAT NON STATIONNAIRE

Pour les poissons adaptés à l'eau douce, les flux étant obtenus par mesure directe, les valeurs moyennes sont données avec l'erreur standard de la moyenne.

Dans le cas des poissons soumis à des variations de salinité du milieu extérieur, rappelons (voir chap. I) que les intensités relatives moyennes (en % de la valeur du flux dans le milieu d'adaptation) sont données avec l'erreur standard de la moyenne, bien qu'il s'agisse de nombres fractionnaires. La valeur absolue moyenne des flux (exprimée en mEq/h/100 g) est donnée sans erreur standard.

LISTE DES ABRÉVIATIONS UTILISÉES

RAS	: radioactivité spécifique.
$[Na]_{ext}, [Na]_i$	: concentration du sodium dans le milieu externe, dans le milieu intérieur.
f_s^*	: flux sortant radioactif.
f_s	: flux sortant vrai.
f_e	: flux entrant vrai.
f_n	: flux net.
flet EM, flet ED	: flet adapté à l'eau de mer, flet adapté à l'eau douce.

CHAPITRE III

CARACTÉRISTIQUES DES ÉCHANGES DE SODIUM ET DE CHLORE CHEZ DES POISSONS ADAPTÉS A DIFFÉRENTES SALINITÉS

Nous présentons dans ce chapitre un certain nombre de données relatives à l'importance des flux d'électrolytes en fonction de la salinité du milieu d'adaptation, aussi bien chez divers poissons sténohalins marins que chez divers Téléostéens euryhalins. L'importance de la branchie, du tube digestif ainsi que de l'excrétion urinaire, dans les échanges d'électrolytes, sera discutée.

I. — CARACTÉRISTIQUES DE L'ÉQUILIBRE HYDROMINÉRAL CHEZ LE FLET ET L'ANGUILLE ADAPTÉS A L'EAU DOUCE

COMPARAISON AVEC UN STÉNOHALIN D'EAU DOUCE : LE CYPRIN

Rappelons que le poisson d'eau douce, plongé dans un milieu hypotonique à son milieu intérieur (quelques mOsm contre 250 mOsm), est constamment envahi par l'eau pénétrant par osmose à travers les branchies. Pour compenser le déséquilibre hydrominéral qui en résulte, le poisson dispose de deux organes effecteurs : le rein, qui rétablit la balance hydrique en excréant une urine abondante et diluée, et la branchie qui compense les pertes minérales (électrolytes perdus par diffusion à travers la branchie ou entraînés par l'urine) grâce à un processus de transport « actif » qui, à partir d'un milieu très dilué, assure l'absorption de ces ions.

Du point de vue des mécanismes d'échanges ioniques, la caractéristique essentielle des poissons d'eau douce réside dans cette possibilité d'absorber les électrolytes contre le gradient de concentration.

A. — Réalisation pratique des mesures.

La technique consiste à marquer les électrolytes du milieu externe et à suivre la concentration de l'isotope stable et de l'indicateur dans le milieu externe. L'analyse théorique est donnée dans le chapitre premier.

Pour éviter l'influence sur la perméabilité branchiale de « l'effet de choc », signalée par KROGH (1939), MEYER (1948-1951) et MAETZ (1956), un certain nombre de précautions doivent être prises. Les cathéters (cathéter urinaire pour l'étude de l'excrétion urinaire, cathéter intrapéritonéal servant à l'injection des substances étudiées) sont mis en place et les poissons sont ensuite adaptés, pendant au moins 24 heures, à des aquariums expérimentaux de volume réduit. Ces aquariums sont placés derrière un écran et alimentés avec de l'eau courante aérée, à température contrôlée. Au moment des mesures de flux, l'eau courante est arrêtée et un circuit fermé est établi entre l'aquarium, le compteur à circulation liquide et un thermostat. Le volume externe est connu. Le ^{24}Na ou le ^{86}Cl sont ajoutés à dose traceuse au milieu externe. L'évolution de la radioactivité est enregistrée (voir chap. II). Des prélèvements de milieu externe sont effectués à intervalle de temps régulier pour mesurer la concentration du sodium stable. Les flux sont calculés par période d'une heure. Après 2 ou 3 périodes-contrôle, on injecte la substance dont on veut étudier les effets. La figure 6 représente schématiquement le dispositif utilisé.

B. — Intensité des échanges d'électrolytes.

1° LES ÉCHANGES DE SODIUM

a) LE FLET. — Les flux moyens de sodium (10 expériences) observés chez le flet adapté à l'eau douce de Saclay (concentration du sodium externe :

0,457 mEq/l, température au cours des expériences 14 à 16° C) sont les suivants :

$$f_o = 0,014 \pm 0,0016 \text{ mEq/h/100 g.}$$

$$f_n = -0,008 \pm 0,0028 \text{ mEq/h/100 g.}$$

$$f_s = 0,022 \pm 0,0030 \text{ mEq/h/100 g.}$$

Le flux sortant enregistré est le flux sortant global (urinaire et branchial), car les manipulations étaient réalisées sans cathétérisation de la papille urinaire.

L'eau douce de Villefranche-sur-Mer contient moins de sodium (0,1 à 0,2 mEq/l). Les flux d'entrée mesurés sont alors de l'ordre de 0,001 à 0,002 mEq

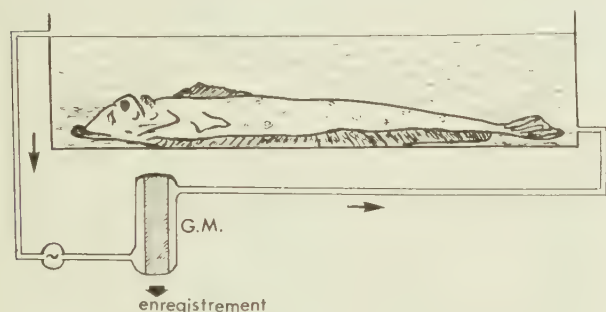


FIG. 6. — Dispositif expérimental pour la mesure des échanges de sodium chez le flet adapté à l'eau douce. Pour la mesure des échanges de chlore le G. M. est remplacé par un compteur à scintillation plastique. Le régulateur de température n'est pas représenté sur la figure.

Na/h/100 g et les flux de sortie de 0,008 à 0,012 mEq/h/100 g.

b) L'ANGUILLE. — Les flux moyens de sodium (6 expériences) chez l'anguille adaptée depuis 15 jours à l'eau douce de Villefranche (0,2 mEq Na/l) à la température de 20 à 23° C sont les suivants :

$$f_o = 0,0213 \pm 0,0065 \text{ mEq/h/100 g.}$$

$$f_n = -0,027 \pm 0,0155 \text{ mEq/h/100 g.}$$

$$f_s = 0,048 \pm 0,0160 \text{ mEq/h/100 g.}$$

Le flux sortant est le flux sortant global (branchial et urinaire).

c) COMPARAISON AVEC UN POISSON D'EAU DOUCE : LE CYPRIN. — MAETZ, BOURGUET et LAHLOUH (1964) donnent la valeur moyenne des flux unidirectionnels et du flux net de sodium mesurés au cours de 27 périodes témoins chez *Carassius auratus*. Les résultats se rapportent à des animaux sans cathéter urinaire

(flux sortant global urinaire et branchial), adaptés à une eau contenant 0,45 mEqNa/l.

$$f_o = 0,0097 \pm 0,0010 \text{ mEq/h/100 g.}$$

$$f_n = +0,0005 \pm 0,0014 \text{ mEq/h/100 g.}$$

$$f_s = 0,0092 \pm 0,0011 \text{ mEq/h/100 g.}$$

Les flux observés chez le flet et l'anguille sont donc du même ordre de grandeur.

2° LES ÉCHANGES DE CHLORE

a) LE FLET. — Trois expériences seulement ont été réalisées avec le ^{36}Cl chez le flet adapté à l'eau douce. L'intensité des flux varie de 0,001 à 0,002 mEq/h/100 g pour une eau contenant 0,6 à 1 mEq de chlore par litre.

b) L'ANGUILLE. — Dans nos conditions expérimentales, aucun flux entrant de chlore n'a pu être décelé chez l'anguille adaptée à l'eau douce. Il apparaît parfois un flux net négatif de chlore (de l'ordre de 3 à 5 $\mu\text{Eq/h/100 g}$). Rappelons que KROGH (1937) estime que l'anguille n'absorbe pas de chlore à partir de l'eau douce.

c) COMPARAISON AVEC LE CYPRIIN. — MAETZ et GARCIA ROMEU (1964) donnent pour *Carassius* quelques valeurs du flux entrant de chlore : $0,019 \pm 0,0036$ mEq/h/100 g (4 animaux); $0,021 \pm 0,0045$ (4 animaux) et $0,0136 \pm 0,0071$ (5 animaux). Ces valeurs sont plus grandes que celles obtenues chez le flet.

C. — Importance de l'excrétion urinaire des électrolytes dans ces échanges.

Le volume d'urine produit par le flet adapté à l'eau douce est de $68,8 \pm 6,48$ ml/kg/jour (27 périodes). Ce débit urinaire est du même ordre de grandeur que ceux observés par divers auteurs chez des sténohalins d'eau douce ou des euryhalins et notamment l'anguille (tableau I). Seuls le poisson rouge *Carassius auratus* et le poisson euryhalin, *Fundulus kansæ*, ont une excrétion urinaire beaucoup plus importante, de l'ordre de 200 à 300 ml/kg/jour. Les études récentes de MAETZ et coll. sur le *Carassius* ont confirmé ces valeurs (MAETZ, BOURGUET et LAHLOUH, 1964; MAETZ, BOURGUET, LAHLOUH et HOURDRY, 1964).

TABLEAU I. — DÉBIT URINAIRE MOYEN (ml/kg/j) DE QUELQUES TÉLÉOSTÉENS MARINS ET D'EAU DOUCE

ESPÈCES	DÉBIT URINAIRE	RÉFÉRENCE
<i>Poissons d'eau douce.</i>		
<i>Salmo irideus</i>	60-106	KROGH, 1937.
<i>Cyprinus carpio</i>	48	SMITH, 1929.
<i>Carassius auratus</i>	40-100	KROGH, 1937.
<i>Carassius auratus</i>	52,8	SMITH, 1929.
<i>Carassius auratus</i>	328,8 ± 9,6	MAETZ, 1963.
	(189 expériences).	
<i>Catostomus commersonii</i>	7-26	HAYWOOD et CLAPP, 1942.
<i>Ameiurus nebulosus</i>	51-79	HAYWOOD et CLAPP, 1942.
<i>Anguilla anguilla</i> *	15,35	SMITH, 1929.
<i>Anguilla anguilla</i> *	84,5 ± 9,88	SHARRATT <i>et al</i> , 1964 a.
	(11 expériences).	
<i>Fundulus kansæ</i> *	200 ± 38 (6)	STANLEY et FLEMING, 1964.
<i>Platichthys flesus</i> * (dans 4 % salinité)	24	HENSCHEL, 1936.
<i>Platichthys flesus</i> *	68,8 ± 6,48	MOTAIS.
	(27 expériences).	
<i>Poissons d'eau de mer.</i>		
<i>Lophius piscatorius</i>	20-30	BURIAN, 1908-1909.
<i>Lophius piscatorius</i>	18	EDWARDS et CONDORELLI, 1928.
<i>Lophius piscatorius</i>	12,9-54,4	MARSHALL, 1930.
<i>Lophius piscatorius</i>	< 29,4	FORSTER, 1953.
<i>Myoxocephalus octodecimspinosus</i>	3,2	MARSHALL, 1930; CLARKE, 1934.
<i>Myoxocephalus octodecimspinosus</i>	9,3	FORSTER, 1953.
<i>Scorpena</i>	10-12	BURIAN, 1908-1909.
<i>Conger</i>	3-5	BURIAN, 1908-1909.
<i>Muraena helena</i>	5	EDWARDS et CONDORELLI, 1928.
<i>Anguilla</i> *	0,4-5	SMITH, 1930.
<i>Anguilla</i> *	15,1 ± 2,07	SHARRATT <i>et al</i> , 1964 a.
	(7 expériences).	
<i>Fundulus</i> *	21 ± 3	STANLEY et FLEMING, 1964.
<i>Platichthys</i> *	13	HENSCHEL, 1936.
<i>Platichthys</i> *	11,3 ± 2,06	MOTAIS.
	(5 expériences).	
* Poissons euryhalins.		

Les caractéristiques de l'excrétion urinaire chez le flet en eau douce sont données dans le tableau II. Afin d'évaluer l'importance de l'excrétion urinaire dans les échanges d'électrolytes (exprimés en mEq/h/100 g), les résultats sont exprimés en ml/h/100 g.

Ce tableau appelle quelques commentaires :

1° Le taux de filtration glomérulaire chez le flet ($0,491 \pm 0,052$ ml/h/100 g) est identique à celui observé chez l'anguille par SHARRATT *et al* (1964 a) : $0,46 \pm 0,053$. Il est beaucoup plus petit que chez le poisson rouge : $2,037 \pm 0,063$ (MAETZ, 1963).

2° La fraction d'eau réabsorbée est de 50 % chez le flet et l'anguille, c'est-à-dire sensiblement plus importante que chez le poisson rouge (34 %).

L'importance relativement faible du débit urinaire chez le flet et l'anguille, par comparaison au débit urinaire du poisson rouge, est donc due au fait que le taux de filtration glomérulaire est moins important et que la fraction d'eau réabsorbée est plus grande.

TABLEAU II. — CARACTÉRISTIQUES DE L'EXCRÉTION URINAIRE DU FLET EN EAU DOUCE

Débit urinaire moyen (ml/100 g/h).	0,287 ± 0,027 (n = 27)
Taux de filtration glomérulaire (ml/100 g/h).	0,491 ± 0,052 (n = 27)
Clearance de l'eau libre (ml/100 g/h).	0,218 ± 0,022 (n = 27)
Indice de réabsorption d'eau.	1,99 ± 0,13 (n = 23)
Pression osmotique de l'urine (mOsm/l).	64,4 ± 5,50 (n = 30)
Pression osmotique du plasma (mOsm/l).	274,4 ± 4,24 (n = 9)
Concentration du sodium urinaire (mEq/l).	21,2 ± 1,69 (n = 30)
Concentration du sodium plasmatique (mEq/l).	144,5 ± 2,34 (n = 9)

3° La réabsorption de soluté est importante chez le flet. Son expression en pourcentage est

$$100 \frac{(Fg \times P_{osm} - V \times U_{osm})}{Fg \times P_{osm}}, \text{ ce qui donne } 86 \%.$$

Pour le sodium, une expression semblable conduit à une réabsorption de 91 %. Les chiffres obtenus par MAETZ sur le poisson rouge sont respectivement de 91 et 93 %. Ceci se traduit par une urine peu concentrée : 21 mEq Na/l chiffre voisin de celui donné par SHARRATT *et al* chez l'anguille d'eau douce (19 mEqNa/l), mais légèrement plus fort que chez le poisson rouge (11,5 mEq/l).

Il est évidemment très intéressant d'évaluer la part due à l'excrétion urinaire dans l'excrétion totale de Na que nous avons mesurée précédemment à l'aide du radiosodium : 0,0061 mEq de Na sont éliminés par l'urine chaque heure pour un flet de 100 g, alors que le flux sortant total de Na est de 0,022 mEq. L'excrétion urinaire représente donc, dans nos conditions expérimentales, environ le tiers de l'excrétion totale. Pour l'anguille, l'excrétion urinaire représente un flux sortant de Na de 0,0066 mEq (SHARRATT *et al*) pour un flux sortant total de 0,048 mEq, soit le huitième de l'excrétion totale. Il faut signaler que SHARRATT *et al* (1964 a) n'ont pas trouvé de chlorures dans les urines d'anguille d'eau douce. Il est donc vraisemblable que les pertes de chlore, que nous avons parfois observées chez l'anguille adaptée à l'eau douce, sont d'origine branchiale. Ceci demande néanmoins à être confirmé.

D. — Mécanismes responsables de l'absorption du sodium et du chlore.

Placés dans les mêmes conditions osmotiques que le poisson rouge, les euryhalins adaptés à l'eau douce absorbent des quantités sensiblement équivalentes de sodium. Les modalités d'absorption sont-elles les mêmes ?

1° FONCTIONNEMENT DE LA CELLULE BRANCHIALE DU POISSON ROUGE

A la suite de nombreux travaux réalisés sur des membranes biologiques, comme la peau de grenouille, on admet généralement que l'absorption de l'ion sodium à partir d'un milieu dilué est obtenue grâce à une « pompe à sodium », l'énergie nécessaire à ce transport « actif » étant fournie par le métabolisme cellulaire. Le chlore suivrait passive-

ment le cation, l'absorption active du sodium créant une différence de potentiel entre les faces interne et externe de la membrane. Cependant, GARCIA ROMEU et MAETZ (1964) ont montré récemment que, chez le poisson rouge, les mécanismes d'absorption du sodium et du chlore sont indépendants. En effet, le chlore peut être absorbé à partir d'une eau contenant uniquement du chlorure de choline et, parallèlement, le sodium peut être absorbé à partir d'une eau contenant uniquement du sulfate de sodium. D'ailleurs, les ions Na^+ et Cl^- peuvent être absorbés ensemble à partir d'une solution de NaCl mais à des taux très différents.

Les différences observées dans l'absorption d'ions de signe opposé ne peuvent s'expliquer dans le cadre de la loi de l'électro-neutralité des solutions qu'en admettant un échange avec des ions endogènes de même signe. De fait, MAETZ et GARCIA ROMEU (1964) ont montré que le sodium de l'eau douce est échangé contre de l'ammonium fourni par la branchie : chez les Téléostéens l'excrétion azotée a pour site la branchie (SMITH, 1929; DELAUNAY, 1929) et elle a lieu essentiellement sous forme d'ammonium.

Les travaux récents de WOLBACH, HEINEMAN et FISHMAN (1959) sur *Ameiurus*, ceux de GOLDSTEIN et FORSTER (1961) sur *Myoxocephalus* et *Anguilla*, et ceux de THORNBURN et MATTY (1963) sur *Carassius* et *Salmo*, donnent des valeurs du taux d'excrétion branchial de l'ammonium (0,015 à 0,100 mEq/h/100 g) qui se trouvent être du même ordre de grandeur que les taux rapportés pour le flux entrant de sodium. Parallèlement, le chlore est échangé contre du bicarbonate : or la branchie est le lieu d'excrétion du CO_2 respiratoire, et ses cellules contiennent une enzyme, l'anhydrase carbonique, susceptible de catalyser la réaction $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_3\text{H}^- + \text{H}^+$.

2° MISE EN ÉVIDENCE D'UN MÉCANISME D'ÉCHANGE $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ CHEZ L'ANGUILLE ADAPTÉE A L'EAU DOUCE

Pour rechercher l'existence éventuelle d'échanges $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ et $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ chez l'anguille, nous avons utilisé la méthode indirecte consistant à suivre l'évolution des flux de sodium et de chlore après modification expérimentale de la concentration d'ammonium et de bicarbonate dans le milieu intérieur. Cette modification est obtenue en injectant du sulfate d'ammonium ou du bicarbonate de potassium dans la cavité intrapéritonéale à l'aide d'un cathéter en polythène mis en place au début de l'expérience.

Les volumes injectés étaient de 0,2 ml d'une solution molaire de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et 0,15 ml d'une solution molaire de KHCO_3 pour 100 grammes de poisson. La concentration du sodium externe au cours des expériences était de 0,45 à 0,65 mEq/l et celle du chlore de 1 à 1,5 mEq/l.

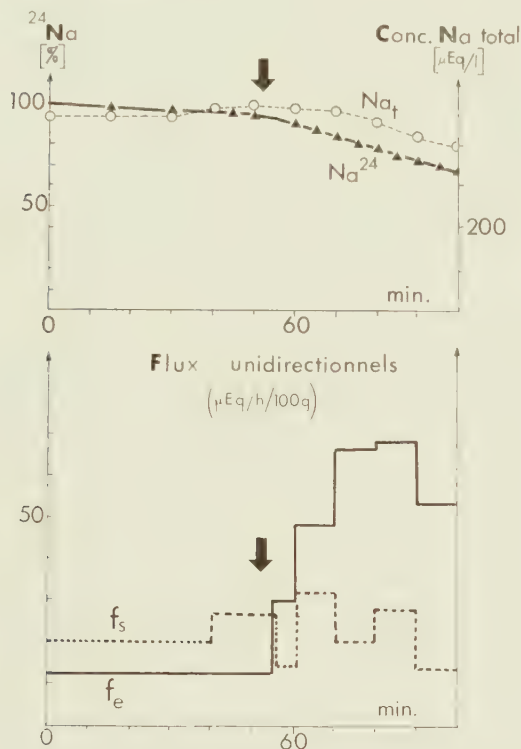


FIG. 7. — Effet d'une injection intrapéritonéale de sulfate d'ammonium sur le flux entrant de sodium chez *Anguilla anguilla* adaptée à l'eau douce. (Expérience du 8 juillet 1964; poisson de 169 g; volume externe 500 ml; température 21°C.)

Graphique supérieur : variations des concentrations externes de radiosodium et de sodium total. En abscisses, le temps en minutes. En ordonnées, à droite, la concentration du sodium externe en $\mu\text{Eq/l}$; à gauche, la concentration du radiosodium en pour-cent de la radioactivité initiale.

Graphique inférieur : flux entrant (f_e) et flux sortant (f_s) en $\mu\text{Eq/h/100 g}$, en fonction du temps en minutes. La flèche indique l'injection de 0,3 ml de solution molaire de sulfate d'ammonium. Le flux sortant est en pointillé.

Disons dès à présent que les injections intrapéritonéales de KHCO_3 ne produisent pas de modification dans la concentration du radiochlore et du chlore du milieu externe. Il nous semble donc possible de conclure que l'épithélium branchial de l'anguille est pratiquement incapable d'absorber des chlorures à partir de solutions très diluées.

La figure 7 illustre les effets de l'injection de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sur les échanges de sodium. On constate, dans les minutes qui suivent l'injection, un changement très important dans le taux d'absorption du radiosodium et du sodium. Le flux entrant de sodium est augmenté de plus de 500 %, tandis que le flux sortant n'est pas modifié. Cette action est de courte durée (moins d'une heure, effet maximal environ 30 minutes après l'injection). Le tableau III résume les résultats obtenus au cours de six expériences. On

TABLEAU III. — EFFET DE L'INJECTION DE SULFATE D'AMMONIUM SUR LES ÉCHANGES DE SODIUM (exprimés en $\mu\text{Eq/h/100 g}$) CHEZ *Anguilla anguilla* ADAPTÉE A L'EAU DOUCE.

	PÉRIODE TÉMOIN	FLUX MAXIMAL	DIFFÉRENCE
Flux entrant..	21,3 ± 6,5	116,5 ± 38,8	+95,2 ± 32,6
Flux net.....	-26,7 ± 15,5	+66,4 ± 31,4	+93,1 ± 35,6
Flux sortant..	48,0 ± 16,0	40,1 ± 13,3	+2,1 ± 27,0

* 0,02 < P < 0,005. Nombre d'animaux : 6.

a comparé les flux nets et unidirectionnels mesurés au moment de l'effet maximal observé et pendant la demi-heure précédant l'injection (période témoin). On note que le flux entrant maximal est 5 fois plus grand que pendant la période témoin. Le flux net évolue parallèlement au flux entrant, tandis que le flux sortant n'est pas modifié. Nous avons vérifié que des injections témoins (0,2 ml de KHCO_3) ne modifiaient pas les échanges de sodium.

Il existe donc, pour le sodium dans l'épithélium branchial de l'anguille adaptée à l'eau douce, un mécanisme d'échange avec l'ammonium endogène comparable à celui décrit chez *Carassius*.

3° MÉCANISMES D'ÉCHANGES $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ et $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ CHEZ LE FLET ADAPTÉ A L'EAU DOUCE

Quatre expériences préliminaires ont montré que l'injection d'ions ammonium et bicarbonate est susceptible de produire une augmentation du flux entrant respectivement de sodium et de chlore chez le flet adapté à l'eau douce. Il paraît donc vraisemblable qu'un double mécanisme d'échange $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ et $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ existe dans la branchie du flet adapté à l'eau douce. Des expériences complémentaires sont nécessaires pour l'affirmer.

II. — CARACTÉRISTIQUES DE L'ÉQUILIBRE HYDROMINÉRAL CHEZ LES STÉNOHALINS MARINS ET LES EURYHALINS ADAPTÉS A L'EAU DE MER ET A DES EAUX DE MER DILUÉES

Dans les considérations théoriques, nous avons vu que le poisson marin et l'eau dans laquelle il vit forment un système en état stationnaire, ce qui implique que les flux entrant et sortant d'électrolytes sont identiques. Il paraît donc suffisant, *a priori*, de mesurer à l'aide de la technique la plus pratique l'un ou l'autre de ces flux. Nous avons mesuré les flux sortants de sodium chez différents sténohalins et euryhalins, mais nous avons en outre mesuré les flux entrants chez deux d'entre eux : le flet et le serran.

A. — Réalisation pratique des mesures de flux sortant.

1° ETUDE DE LA COURBE DE « DÉCHARGE RADIOACTIVE » DU POISSON. — Des courbes de renouvellement peuvent être obtenues en suivant par voie externe l'évolution de la radioactivité γ émise par le poisson préalablement marqué au radiosodium par injection intrapéritonéale et plongé en eau de mer courante. L'analyse théorique de cette méthode a été faite précédemment (voir chap. I). Rappelons qu'elle ne peut être utilisée que pour mesurer les échanges de sodium chez le flet.

Le renouvellement du sodium échangeable du poisson est suivi de façon continue pendant environ 70 heures, en plaçant l'animal en position fixe vis-à-vis d'un détecteur collimaté selon le schéma de la figure 8, grâce à un aquarium en leucoflex de forme losangique qui tient lieu d'appareil de contention. Le détecteur est placé sous la région caudale du poisson.

2° ETUDE DE LA COURBE DE « CHARGE RADIOACTIVE » DU MILIEU EXTERNE. — Le poisson, qui a reçu l'indicateur nucléaire par injection intrapéritonéale, est placé dans un aquarium contenant un volume déterminé d'eau de mer. On mesure, en fonction du temps, l'apparition de l'indicateur dans le liquide externe. L'analyse théorique de cette méthode a été faite dans le chapitre premier.

Le montage expérimental pratique est le même que celui utilisé pour la mesure des échanges d'électrolytes en eau douce (fig. 6). Les prises de liquide externe sont

inutiles. Cette méthode peut être utilisée quels que soient la forme et le comportement du poisson et convient aussi bien pour un émetteur γ pénétrant comme le ^{24}Na que pour un émetteur β de faible énergie comme le ^{36}Cl , à condition d'utiliser un compteur à circulation approprié.

3° COMPARAISON DES VALEURS OBTENUES AVEC CES DEUX TECHNIQUES. — Les deux méthodes pouvant être utilisées pour mesurer les échanges de sodium chez

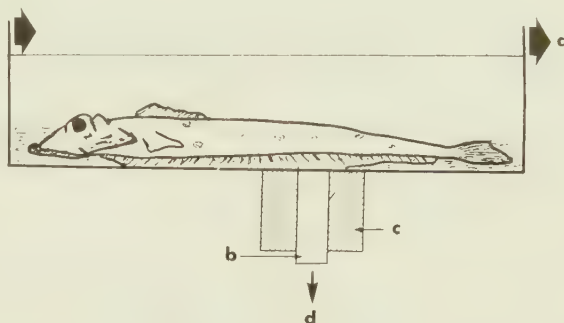


FIG. 8. — Dispositif expérimental pour la mesure des échanges de sodium chez le flet adapté à l'eau de mer (flux sortant radioactif).

a : circulation d'eau de mer en circuit ouvert.

b : détecteur à scintillation.

c : écran de plomb.

d : vers installation de comptage et enregistrement.

le flet, nous avons voulu tester leur validité en comparant les résultats obtenus avec chacune d'entre elles. L'analyse graphique de ces courbes (voir chap. I) permet le calcul de λ_1 qui mesure la fraction du sodium échangeable du poisson qui se renou-

TABEAU IV. — COMPARAISON DES TAUX DE RENOUVELLEMENT DU SODIUM ÉCHANGEABLE DU FLET, MESURÉS PAR DEUX TECHNIQUES DIFFÉRENTES (température des expériences : 15-18° C).

« DÉCHARGE RADIOACTIVE » DU POISSON		« CHARGE RADIOACTIVE » DU MILIEU	
Taux de renouvellement horaire (en %)	Date des expériences	Taux de renouvellement horaire (en %)	Date des expériences
53	3-2-1964	43,3	20- 2-1964
44	11-3-1964	55,4	14- 2-1964
33	13-6-1962	46,2	25- 2-1964
54	13-6-1962	33,8	25- 2-1964
48	8-5-1962	43,3	28- 2-1964
48	8-5-1962	53,3	26- 2-1964
		43,3	27-10-1964
		57,7	28-10-1964
		49,5	27-10-1964
		43,3	28-10-1964
Moyenne $\pm$ e. s. : 46,6 $\pm$ 3,0		Moyenne $\pm$ e. s. : 46,9 $\pm$ 2,26	

velle par heure. Les valeurs obtenues sont rapportées dans le tableau IV. Il ressort de ce tableau que les deux techniques donnent des résultats très comparables. MOTAIS (1961 a), MOTAIS et MAETZ (1964), étudiant la courbe de « décharge radioactive » du poisson, l'analysent à tort comme correspondant à une seule exponentielle. Nous avons vu que l'amélioration des moyens de détection nous permet de suivre maintenant cette courbe pendant 3 jours au lieu d'une dizaine d'heures, conditions expérimentales qui font apparaître l'existence du deuxième terme exponentiel. La valeur moyenne de la fraction renouvelée se trouve ainsi fortement modifiée $46,6 \% \pm 3$ par heure au lieu de 26% par heure selon nos estimations antérieures.

B. — Réalisation pratique des mesures de flux entrant.

La technique a été décrite dans le chapitre premier.

La radioactivité des échantillons de plasma et d'eau de mer, de volume connu, est comptée dans un scintillateur puits à INa. Le sodium total est dosé par photométrie de flamme.

C. — Intensité des échanges d'électrolytes chez les poissons adaptés à l'eau de mer.

1° FLUX SORTANT DE SODIUM CHEZ DIFFÉRENTS POISSONS. — Nous avons mesuré, chez 9 espèces de poissons (6 sténohalins et 3 euryhalins), le flux sortant

de sodium. Le tableau V donne la fraction du sodium échangeable renouvelée à l'heure (λ), obtenue à partir des courbes expérimentales, et le flux sortant calculé à partir de λ , de l'espace sodium et de la concentration du sodium plasmatique. On constate que chez tous ces poissons EM les échanges sont intenses : ils portent sur environ la moitié du sodium échangeable à l'heure (21 à 80 %), ce qui correspond à des flux de sortie de 1,45 à 4,84 mEqNa/h/100 g de poisson.

2° COMPARAISON ENTRE LES FLUX SORTANT ET ENTRANT DE SODIUM. — Le flux entrant de sodium a été mesuré seulement chez un euryhalin (le flet) et un sténohalin marin (le serran). On peut comparer, dans le tableau VI, les valeurs des flux sortant et entrant chez ces poissons.

Le flux d'entrée n'est pratiquement pas différent du flux de sortie chez le serran, mais chez le flet le flux entrant est plus faible (de 0,35 mEq/h/100 g).

3° COMPARAISON ENTRE L'INTENSITÉ DES ÉCHANGES DE SODIUM ET DE CHLORE. — Les fractions du sodium et du chlore échangeables renouvelées à l'heure ont été mesurées simultanément sur 6 flets adaptés à l'eau de mer. Aucune étude de ce genre n'a été faite sur d'autre poisson. Les valeurs individuelles sont rapportées dans le tableau VII. La moyenne des différences entre ces valeurs pour les deux ions est significativement différente de 0 (différence $21,8 \pm 4,0$; $t = 5,41$; $P < 0,01$).

Les flux sortants moyens sont donc, pour ces 6 animaux, de 2,56 mEq/h/100 g pour le sodium et

TABLEAU V. — INTENSITÉ DES ÉCHANGES DE SODIUM CHEZ DIFFÉRENTS POISSONS MARINS

ESPÈCES ÉTUDIÉES	FRACTION RENOUVELÉE λ	FLUX SORTANT DÉDUIT DE λ	NOMBRE D'ANIMAUX	SODIUM PLASMATIQUE (mEq/l)
<i>Diplodus annularis</i> L.....	$47,7 \pm 5,09^{**}$	3,00	3	191
<i>Gobius cruentatus</i> Gmelin..	$21,3 \pm 5,19$	1,16	3	165
<i>Uranoscopus scaber</i> L.....	$26,7 \pm 3,00$	1,60	4	179
<i>Scorpena porcus</i> L.....	$36,0 \pm 2,45$	2,12	4	178
<i>Chromis chromis</i> L.....	$53,0 \pm 10,00$	3,50	2	200
<i>Serranus scriba</i> L.....	$42,4 \pm 7,10$	2,65	8	189
<i>Anguilla anguilla</i> L.*.....	$27,7 \pm 1,20$	1,45	4	159
<i>Mugil cephalus</i> L.*.....	$80,6 \pm 15,90$	4,84	3	181
<i>Platichthys flesus</i> L.*.....	$46,9 \pm 2,26$	2,60	10	169

Espèce euryhaline.
^{**} Moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne.
 Fraction renouvelée en % par heure.
 Flux sortant en mEq/h/100 g.

TABLEAU VI. — COMPARAISON DES FLUX ENTRANTS ET SORTANTS DE SODIUM
(mEq/h/100 g $\pm$ e. s.)
CHEZ LE SERRAN ET LE FLET ADAPTÉS A DIFFÉRENTS MILIEUX

ESPÈCES ÉTUDIÉES	FLUX SORTANT (déduit de λ)	FLUX ENTRANT	CONCENTRATION PLASMATIQUE	
			Na (mEq/l)	Cl (mEq/l)
Flet EM.	$\frac{2,6}{[\lambda = 46,9 \pm 2,26]}$ (n = 10)	$2,25 \pm 0,08$ (n = 8)	$168 \pm 1,5$ (n = 31)	$156 \pm 3,2$ (n = 19)
Flet EM1/2.	$\frac{0,97}{[\lambda = 17,3 \pm 1,85]}$ (n = 6)	$0,69 \pm 0,08$ (n = 7)	$170 \pm 1,1$ (n = 8)	$176 \pm 8,7$ (n = 8)
Flet EM1/4.	$\frac{0,16}{[\lambda = 3,1 \pm 0,68]}$ (n = 3)	—	$153 \pm 6,9$ (n = 5)	$157 \pm 4,5$ (n = 5)
Flet ED (ED : 0,46 mEqNa/l).	$0,022 \pm 0,003$ (n = 10)	$0,014 \pm 0,0016$ (n = 10)	$140 \pm 2,8$ (n = 23)	$160 \pm 6,0$ (n = 4)
Serran EM.	$\frac{2,65}{[\lambda = 42,4 \pm 7,10]}$ (n = 8)	$2,65 \pm 0,07$ (n = 4)	$188 \pm 4,2$ (n = 29)	$162 \pm 3,3$ (n = 29)
Serran EM1/4.	$\frac{0,56}{[\lambda = 10,3 \pm 1,20]}$ (n = 7)	$0,55 \pm 0,05$ (n = 6)	$165 \pm 3,4$ (n = 6)	$146 \pm 1,8$ (n = 6)
Entre parenthèses le nombre d'animaux utilisés. En eau douce les flux sortants et entrants ont été mesurés directement.				

TABLEAU VII. — TAUX DE RENOUVELLEMENT HORAIRE (exprimés en %)
DU SODIUM ET DU CHLORE ÉCHANGEABLE DES FLETS ADAPTÉS A L'EAU DE MER (t = 15-16° C).

POISSONS	CHLORE	DATE	SODIUM	DATE	DIFFÉRENCE
A	14,4	21-2-1964	43,3 p. cent	20-2-1964	+28,9
B	23,1	13-2-1964	55,4 p. cent	14-2-1964	+32,3
E	21,3	24-2-1964	46,2 p. cent	25-2-1964	+24,9
F	28,3	26-2-1964	33,8 p. cent	25-2-1964	+ 5,5
H	28,3	27-2-1964	43,3 p. cent	28-2-1964	+15,0
G	28,8	27-2-1964	53,3 p. cent	26-2-1964	+24,5
Moyenne : 24,0 % $\pm$ 2,3		Moyenne : 45,9 % $\pm$ 3,2		Moy. : 21,9 $\pm$ 4,0 *	

* Différence significative t = 5,41 P < 0,01.

de 1,24 mEq/h/100 g pour le chlore. Il apparaît donc que dans nos conditions expérimentales le sodium est renouvelé deux fois plus vite que le chlore.

4° IMPORTANCE DE L'EXCRÉTION URINAIRE DANS LES ÉCHANGES DE SODIUM. — Le volume d'urine produit par le flet adapté à l'eau de mer est de $11,28 \pm 2,06$ ml/kg/jour (5 animaux). L'urine est pratiquement

isosmotique au sang [urine : $311,8 \pm 15,9$ mOsm (5 animaux); plasma : $329 \pm 14,8$ mOsm (24 animaux)], mais contient beaucoup moins de sodium [urine : $45,9 \pm 3,10$ mEq/l (5 animaux); plasma : $167 \pm 1,5$ mEq/l (31 animaux)]. L'excrétion urinaire de sodium peut ainsi être évaluée pour un poisson de 100 grammes à 0,002 mEq par heure. Elle n'intervient donc presque pas dans le flux sortant total de

sodium (2,60 mEq/h/100 g). Il est intéressant de constater que l'excrétion urinaire de sodium est plus faible chez le flet adapté à l'eau de mer que chez le flet adapté à l'eau douce (0,006 mEq). Cette observation peut être étendue à l'anguille car, d'après les résultats de SHARRATT *et al*, l'excrétion urinaire de Na est de 0,006 mEq en eau douce et de 0,0004 en eau de mer (débit 15 ml/kg/j; teneur en sodium 6,5 mEq/l). Etant donné l'importance négligeable de l'excrétion urinaire dans les échanges de sodium chez le flet adapté à l'eau de mer, nous n'avons pas étudié les caractéristiques de cette excrétion. Rappelons cependant que SHARRATT *et al* (1964) ont montré que la réduction du débit urinaire observée chez l'anguille après adaptation à l'eau de mer était due à une diminution considérable de la quantité de plasma filtré par le rein et à une augmentation de la quantité de filtrat réabsorbé.

D. — Intensité des échanges de sodium chez les poissons adaptés à des eaux de mer diluées.

Nous avons mesuré les flux de sortie de sodium chez le flet EM1/2, le flet EM1/4, chez le serran EM1/4 et les flux entrants chez le flet EM1/2 et le serran EM1/4. Les résultats sont consignés dans le tableau VI. Nous avons également donné les valeurs des concentrations du sodium et du chlore plasmatique des animaux dans ces différents milieux d'adaptation. On constate que, pour le flet, l'adaptation à EM1/4 entraîne une diminution de la concentration du sodium plasmatique ($[Na]_{int}$) de 9 % ($t = 3,1$), et l'adaptation à ED une diminution de 17 % ($t = 9,3$).

On observe que l'intensité des flux diminue avec la concentration du sodium du milieu d'adaptation, aussi bien chez le serran que chez le flet. En outre, le flux entrant est plus faible (de 0,28 mEq) que le flux sortant chez le flet, de même intensité chez le serran.

E. — Discussion.

RÔLE DU TUBE DIGESTIF DANS LES ÉCHANGES IONIQUES CHEZ LES POISSONS MARINS

Les Téléostéens marins se trouvent dans des conditions osmotiques bien différentes de celles des poissons d'eau douce, puisque la pression osmotique

de leur milieu intérieur est très inférieure à celle du milieu extérieur. De ce fait, ils doivent faire face à une perte d'eau continuelle.

SMITH (1930-1932), en faisant vivre dans de l'eau de mer renfermant du rouge de phénol des anguilles dont la papille anale avait été ligaturée, a montré que, après quelques heures de séjour dans ce milieu, le colorant était plus concentré dans le liquide intestinal que dans l'eau de mer.

Il prouvait ainsi que le poisson compense les pertes d'eau dues à l'osmose en buvant de l'eau de mer. Il

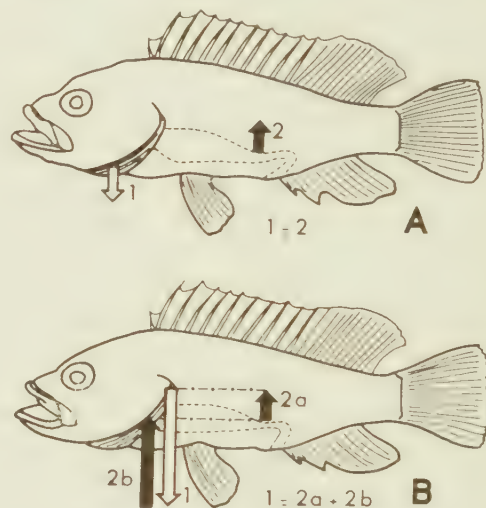


FIG. 9. — Représentation schématique des flux unidirectionnels de sodium chez les Téléostéens marins.

Flèche en noir : flux entrant.

Flèche en blanc : flux sortant.

A) D'après SMITH : 2, flux entrant intestinal; 1, flux sortant branchial.

B) D'après MOTAIS et MAETZ : 2a, flux entrant intestinal; 2b, flux entrant branchial; 1, flux sortant branchial.

est possible, connaissant la concentration du colorant et le volume de liquide contenu dans l'intestin à la fin de l'expérience, d'évaluer la quantité d'eau de mer absorbée. SMITH a montré de cette façon que l'anguille adaptée à l'eau de mer et *Myoxocephalus* boivent de 0,2 à 1 ml d'eau de mer par heure et par 100 g de poisson, ce qui correspond à une absorption à travers la muqueuse intestinale de 0,090 à 0,450 mEq de Cl ou de Na.

Le résultat de cette absorption de sel serait un accroissement du taux des électrolytes plasmatiques s'il n'existait aucun mécanisme compensateur. La teneur en Na et en Cl de l'urine étant inférieure à

celle du plasma, il est évident que les électrolytes doivent être éliminés par une voie extra-rénale. SMITH a suggéré que les branchies pouvaient être le site de cette excrétion, ce qui a été confirmé ultérieurement, grâce à des perfusions de branchie d'anguille, par KEYS (1931) et SCHLIEPER (1933). Ce bilan des échanges d'électrolytes entre le poisson marin et l'eau de mer (fig. 9 A) a été dressé avant l'emploi des indicateurs nucléaires.

L'interprétation des expériences réalisées chez les poissons marins à l'aide des isotopes, qui permettent de mesurer non le flux net (bilan) mais les flux unidirectionnels, fait apparaître deux tendances contradictoires.

D'une part, MULLINS (1950), HOUSE (1963) et GORDON (1963) interprètent leurs résultats comme si la totalité du flux entrant d'électrolytes passait par le tube digestif et le flux sortant par la branchie, ce qui les conduit, étant donné l'importance des flux mesurés (1,3 à 2,6 mEq/h/100 g), à admettre des volumes d'eau de boisson nettement plus élevés (4 à 6 ml/h/100 g) que ceux observés par SMITH.

D'autre part, MOTAIS et MAETZ (1964 et 1965) mesurent sur le flet et sur le serran à la fois la quantité de sodium absorbée avec l'eau de boisson (technique utilisée par SMITH) et la quantité de sodium total échangée par l'animal (mesure du taux de renouvellement du Na à l'aide du ^{24}Na).

Les résultats obtenus montrent que le flet absorbe $1,0 \pm 0,15$ ml d'eau de mer par heure et par 100 g de poisson (erreur standard de la moyenne pour 4 animaux), et le serran $0,5$ ml/h/100 g (2 animaux). Connaissant la quantité de sodium de l'eau de mer et celle qui reste dans le tube digestif, on déduit le taux d'absorption intestinale, à savoir : $0,6 \pm 0,09$ mEq/h/100 g pour le flet et $0,27$ ou $0,28$ pour le serran. Cette masse de sodium, qui pénètre par le tube digestif et qui est excrétée par la branchie, ne représente qu'une petite fraction des échanges de sodium entre le poisson et l'eau de mer (environ $2,6$ mEq/h/100 g pour ces 2 poissons).

Ces auteurs en concluent que seule une faible fraction des échanges passe par le tube digestif et que la branchie est le site aussi bien du flux sortant que de la majeure partie du flux entrant.

Nous avons d'ailleurs constaté que chez un flet ayant reçu une injection de radiosodium le flux de sortie radioactif est identique, que le poisson ait ou non le tube digestif bloqué par un ballon de caoutchouc, ce qui confirme le peu d'importance du tube digestif dans les échanges de sodium.

Les résultats de l'expérience suivante apportent un argument décisif en faveur de cette thèse.

Huit flets sont placés dans une eau de mer dont le sodium est marqué. Après 30 minutes de séjour dans ce milieu, les animaux sont sacrifiés et on prélève des échantillons de liquide intestinal, de sang et de milieu extérieur. La radioactivité spécifique de ces échantillons est calculée. Le tableau VIII, qui rassemble les résultats obtenus, montre que la radio-

TABLEAU VIII. — COMPARAISON DES RADIOACTIVITÉS SPÉCIFIQUES DU SODIUM (en ipm/mEq) ENTRE L'EAU DE MER (EM), LE TUBE DIGESTIF (TD) ET LE PLASMA (P) CHEZ LES FLETS ADAPTÉS A L'EAU DE MER. LES ÉCHANTILLONS ONT ÉTÉ PRÉLEVÉS APRÈS 30 MINUTES DE SÉJOUR DANS L'EAU DE MER MARQUÉE.

DATE	EM/TD	EM/P	P/TD
17-11-1964 ...	6,5	4,4	1,485
17-11-1964 ...	5,1	2,8	1,833
17-11-1964 ...	4,2	4,1	1,030
17-11-1964 ...	6,0	3,3	1,795
19-11-1964 ...	9,4	3,3	3,170
19-11-1964 ...	6,8	3,0	2,280
19-11-1964 ...	7,4	3,1	2,400
19-11-1964 ...	3,2	3,0	1,045
Moy. $\pm$ e. s. ...	$6,07 \pm 0,68$	$3,37 \pm 0,20$	$1,879 \pm 0,256$ *

* Significativité $0,02 > p > 0,01$.

activité spécifique du sodium plasmatique est significativement plus élevée que celle du liquide intestinal ($t = 35$ $0,01 < P < 0,02$). Dans ces conditions, le sodium du tube digestif ne peut être le précurseur du sodium plasmatique. Il est donc évident que la majeure partie du sodium externe, qui s'échange avec le sodium sanguin, pénètre non par le tube digestif mais par la branchie, le flux entrant à travers la peau étant négligeable (MOTAIS et MAETZ, 1965). En conclusion, le flux sortant de sodium est uniquement branchial, le sodium urinaire étant négligeable et le flux entrant se divise en une composante branchiale, la plus importante, et une composante intestinale (flux net positif d'absorption). La différence entre flux sortant et flux entrant branchial (flux net d'excrétion) compense le flux net d'absorption intestinal (fig. 9 B). La comparaison du flux entrant mesuré directement (prise de sang) et du flux déduit à partir de la fraction renouvelée λ montre que chez le serran les valeurs obtenues sont à peu près identiques. En revanche, chez le flet EM et EM1/2 les valeurs du flux entrant sont plus faibles, de $0,3$ mEq/h/100 g en moyenne. Il est possible que

cette différence ne soit pas très significative étant donné, d'une part, la marge d'erreur faite sur la mesure de λ (10 % en EM, 5 % en EM1/2 de sa valeur moyenne, soit environ 0,1 mEq); d'autre part, la variabilité de la concentration du sodium plasmatique et de l'espace sodium. Toutefois, cette différence pourrait s'expliquer par nos conditions de mesure du flux entrant : les échanges eau de mer-intestin étant relativement faibles, le sodium intestinal se marque lentement et, pendant la durée de l'expérience (30 minutes), nous mesurons pratiquement le seul flux entrant branchial.

Au cours de ce travail, le flux entrant mesuré directement sera considéré comme représentant la composante branchiale. Étant donné les considérations précédentes, il est probable que sa valeur est légèrement surestimée.

INTENSITÉ DES ÉCHANGES D'ÉLECTROLYTES

Les échanges branchiaux d'électrolytes sont du même ordre de grandeur pour tous les poissons marins étudiés dans ce travail (tableau V), et, à cet égard, il ne peut être fait aucune distinction entre les sténohalins marins et les euryhalins adaptés à l'eau de mer. Soulignons que les valeurs données par MULLINS (1950) pour l'épinoche (1,07 mEqNa/h/100 g), et par HOUSE (1963) pour la blennie (2,7 mEq Na/h/100 g), sont très voisines. Ces échanges sont intenses puisqu'ils portent sur environ la moitié du sodium échangeable à l'heure.

L'adaptation à EM1/4 se traduit par une réduction de l'intensité de ces échanges : réduction d'un facteur 16 pour le flet, d'un facteur 4,5 pour le serran. Ceci suggère une possibilité de régulation nettement plus importante chez le poisson euryhalin que chez le sténohalin.

L'adaptation à ED se traduit par une réduction très importante de l'intensité des échanges : les flux unidirectionnels de sodium sont environ 170 fois plus importants chez le flet EM que chez le flet ED (2,60 mEq/h/100 g contre 0,015 mEq). De même, l'intensité des flux est environ 200 à 300 fois plus importante chez les sténohalins marins que les sténohalins d'eau douce. Si la différence de concentration des électrolytes entre l'eau de mer et l'eau douce suffit à rendre compte des variations du flux entrant de sodium, la différence de concentration du sodium plasmatique chez les flets EM ($[Na]_i = 168$ mEq/l) et les flets ED ($[Na]_i = 140$ mEq/l) ne peut, en revanche, expliquer une telle réduction du flux sortant.

L'adaptation à l'eau douce et à des eaux de mer diluées s'accompagne donc d'une régulation du flux sortant de sodium qui correspond à une imperméabilisation relative de la branchie au flux de sortie. Cette régulation sera étudiée dans le chapitre suivant.

La figure 10, qui représente l'évolution des flux unidirectionnels (f_e et f_g) en fonction de $[Na]_{ext}$, montre que la diminution relative du flux pour une variation donnée de $[Na]_{ext}$ devient très faible pour des concentrations de sodium inférieures à EM1/4

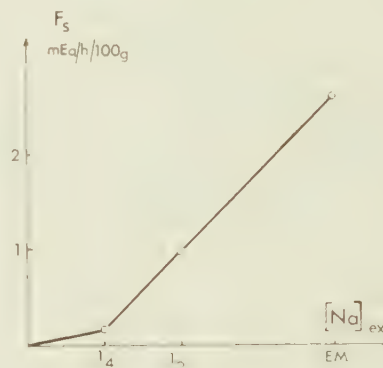


FIG. 10. — Intensité du flux sortant de sodium chez le flet en fonction de la salinité du milieu d'adaptation.

(10 μ Eq/h/100 g pour 10 mEq/l). Une évolution analogue de l'intensité des flux en fonction de la salinité du milieu d'adaptation a été décrite par HOUSE (1963) chez la blennie.

MÉCANISME RESPONSABLE DES ÉCHANGES D'ÉLECTROLYTES CHEZ LES POISSONS MARINS

Nous avons rappelé que, chez le poisson d'eau douce *Carassius auratus*, le sodium et le chlore sont échangés indépendamment et que ces échanges se font respectivement contre de l'ammonium et du bicarbonate endogènes. Ce mécanisme Na^+/NH_4^+ a été mis en évidence chez l'anguille d'eau douce, et des expériences préliminaires laissent à penser que l'absorption des ions Na^+ et Cl^- se ferait chez le flet d'eau douce par l'intermédiaire d'échanges Na^+/NH_4^+ et Cl^-/HCO_3^- . Ces mécanismes ne peuvent rendre compte des échanges chez les poissons marins. En effet, les quantités d'ammonium ou de gaz carbonique excrétées par les poissons marins

sont nettement plus faibles que les quantités de sodium ou de chlore échangées. De plus, pour le poisson en EM il s'agit d'éliminer du NaCl (flux net d'excrétion). Or l'ammonium comme le gaz carbonique sont également éliminés par l'animal. Les flux étant de même sens, il ne peut s'agir d'un échange $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ et $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$. D'ailleurs, l'excrétion des déchets azotés ne se fait pas tant chez le poisson marin sous forme d'ammonium que de triméthylamine-oxyde (BALDWIN, 1949).

Le problème est donc posé de savoir par quel mécanisme les poissons marins sont susceptibles d'échanger avec le milieu extérieur une telle quantité d'électrolytes. En ce qui concerne le flet, le fait que le sodium soit renouvelé deux fois plus vite que le chlore montre qu'au moins la moitié du sodium échangé n'est pas lié au chlore.

CONCLUSION

L'étude des caractéristiques des échanges d'électrolytes chez des Téléostéens euryhalins et sténohalins adaptés à des milieux de salinité variés nous a fourni les résultats suivants.

1° POISSONS EURYHALINS ADAPTÉS A L'EAU DOUCE (anguille et flet).

1° Le déséquilibre de la balance hydrique est compensé, comme chez les poissons d'eau douce, par une filtration glomérulaire importante, une réabsorption d'eau faible, une très forte réabsorption de soluté et un débit urinaire relativement important.

2° L'absorption des électrolytes à partir du milieu extérieur s'effectue au niveau de l'épithélium branchial :

— chez l'anguille, l'absorption de sodium est obtenue grâce à un mécanisme d'échange $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$, mais l'épithélium branchial est incapable d'absorber du chlore à partir de solutions très diluées;

— chez le flet, des expériences préliminaires laissent à penser que l'absorption des ions Na^+ et Cl^- est due à des échanges $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ et $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$.

3° Les électrolytes sont perdus au niveau des branchies et du rein. L'excrétion urinaire de sodium re-

présente chez le flet environ le tiers du flux sortant total de sodium.

4° L'intensité des échanges de sodium est de l'ordre de 0,01 mEq/h/100 g chez les deux poissons euryhalins étudiés. Les échanges de chlore sont de 0,001 mEq/h/100 g chez le flet, nuls chez l'anguille.

2° POISSONS EURYHALINS ET STÉNOHALINS MARINS ADAPTÉS A L'EAU DE MER ET A DES EAUX DE MER DILUÉES

1° Le déséquilibre de la balance hydrique est compensé par une absorption intestinale d'eau de mer (1 ml/h/100 g pour le flet; 0,5 ml pour le serran).

2° Le flux entrant de sodium se divise en deux fractions;

— une composante intestinale (sodium absorbé avec l'eau de mer bue par le poisson) qui représente seulement 10 à 20 % du flux entrant total de sodium;

— une composante branchiale.

3° Le flux sortant est uniquement branchial (excrétion urinaire négligeable).

4° L'intensité des échanges d'électrolytes est fonction de la salinité du milieu externe.

En eau de mer, les échanges de sodium sont très intenses, aussi bien chez les poissons euryhalins que sténohalins; ils portent sur environ la moitié du sodium échangeable à l'heure. Ainsi, le flet EM échange 2,6 mEq Na/h/100 g, soit environ 170 fois plus qu'en ED.

L'adaptation à EM1/4 à partir de EM est caractérisée par une réduction des échanges : facteur 16 chez le flet euryhalin, facteur 4,5 chez le serran sténohalin, différence qui suggère une possibilité de régulation des échanges nettement plus importante chez le poisson euryhalin que chez le poisson sténohalin.

Chez le flet, les échanges de chlore sont deux fois plus faibles que les échanges de sodium, ce qui suggère, pour ce poisson, une certaine dissociation des échanges de ces deux électrolytes.

5° Les mécanismes responsables des échanges chez les poissons marins ne peuvent être du type échanges $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ et $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$. Certaines de leurs caractéristiques apparaîtront lorsque nous étudierons dans le chapitre suivant les modifications des flux unidirectionnels après variation de la salinité du milieu extérieur.

CHAPITRE IV

MODIFICATIONS DES ÉCHANGES D'ÉLECTROLYTES CHEZ LE FLET SOUMIS A DES VARIATIONS DE SALINITÉ DU MILIEU EXTERNE

RÉGULATION INSTANTANÉE ET RÉGULATION DIFFÉRÉE

Les mesures réalisées précédemment ont montré que l'intensité des échanges d'électrolytes diminuait avec la salinité du milieu d'adaptation. Le flux entrant étant lié à la concentration des électrolytes dans le milieu externe et le flux sortant à celle des électrolytes plasmatiques, l'adaptation à un milieu de salinité moins élevée que le milieu d'origine implique donc essentiellement une imperméabilisation de la branchie au flux sortant.

Pour préciser les caractéristiques de cette régulation, il convient d'étudier la cinétique de l'évolution des flux unidirectionnels, et particulièrement du flux sortant, après le changement de milieu.

Soulignons cependant qu'une étude comparative des variations du milieu intérieur de poissons, ayant subi un transfert de courte durée dans un milieu différent du milieu d'origine, permet déjà quelques observations intéressantes. Aussi, dans les tableaux IX et X, avons-nous consigné les résultats obtenus chez un poisson sténohalin, le serran, et un poisson euryhalin, le flet. On constate une relative stabilité de la natrémie chez le flet : ni le transfert d'EM en EM1/2 ou en EM1/4, ni le transfert d'EM1/2 en EM, EM1/4 ou EM1/6 n'entraîne de variation significative de $[Na]_i$. Même un séjour de 3 heures en ED ne produit qu'une diminution de 3,5 % à peine significative ($t = 2,12$). Seul le passage d'ED dans diverses dilutions d'EM entraîne une augmentation significative de $[Na]_i$ variant de 10 à 16 % (ED-EM : $t = 2,17$; ED-EM1/2 : $t = 3,04$; ED-EM1/4 : $t = 2,84$).

En revanche, chez le serran, les variations de la concentration des électrolytes plasmatiques sont

très nettes : diminution de 9 % de la natrémie 30 minutes après transfert d'EM en EM1/8, diminution de 30 % de $[Na]_i$ et $[Cl]_i$ après 3 heures en eau douce (pour Na : $t = 5,86$; pour Cl : $t = 7,16$). Il faut noter que dans ces conditions le sang du serran est fortement hémolysé et l'hématocrite élevé. Les augmentations de poids (1 % par heure chez le flet, 4 % par heure chez le serran), observées après transfert en eau douce et provoquées par la pénétration d'eau par osmose à travers les branchies, ne peuvent rendre compte de la diminution de la concentration des électrolytes plasmatiques (MOTAIS et MAETZ, 1965).

Cette diminution ne peut donc s'expliquer que par un déséquilibre de la balance minérale résultant du changement de milieu. C'est à cette conclusion qu'avaient également abouti EDELMAN *et al* (1960) au cours d'une étude sur le métabolisme des électrolytes après transfert EM-ED de divers poissons sténohalins et euryhalins. Le flux entrant étant à peu près nul en eau douce, aussi bien chez le flet que chez le serran, la différence observée au cours de cette étude comparative ne peut provenir en fait que d'une évolution différente du flux sortant. La réduction de ce flux est vraisemblablement plus importante chez le poisson euryhalin que chez le poisson sténohalin.

Dans ce chapitre, nous étudierons chez le flet les modifications des échanges d'électrolytes après variation de la salinité du milieu extérieur. Une étude comparative sera faite chez le serran dans le chapitre VII.

Dans une première partie, nous analyserons l'évo-

TABLEAU IX. — CONCENTRATIONS DU SODIUM ET DU CHLORE PLASMATIQUES CHEZ LE FLET
DANS DIFFÉRENTS MILIEUX D'ADAPTATION.
VARIATION APRÈS TRANSFERT DANS DES MILIEUX DE SALINITÉ DIFFÉRENTE

MILIEU D'ADAPTATION	CONCENTRATIONS PLASMATIQUES					
	DANS LE MILIEU D'ORIGINE	APRÈS TRANSFERT DE COURTE DURÉE DANS				
		EM	EM1/2	EM1/4	EM1/6	ED
EM :						
Na	168 ± 1,5 (31)		173 ± 3,0 (4)	171 ± 2,3 (8)		162 ± 1,4 (10)
Cl	156 ± 3,2 (19)					148 ± 2,7 (10)
EM1/2 :						
Na	170 ± 1,1 (8)	175 ± 2,2 (4)		172 ± 2,0 (4)	173 ± 3,2 (4)	
Cl	176 ± 8,7 (8)					
ED :						
Na	140 ± 2,8 (23)	155 ± 1,0 (4)	162 ± 4,5 (4)	160 ± 1,7 (4)		
Cl	160 ± 6,0 (4)					
Concentration moyenne (en mEq/l) ± e. s. de la moyenne. La durée du séjour dans le milieu de transfert a été de 30 minutes, sauf pour l'eau douce (180 minutes). Entre parenthèses, le nombre d'animaux.						

TABLEAU X. — CONCENTRATIONS DU SODIUM ET DU CHLORE PLASMATIQUES CHEZ LE SERRAN
DANS DIFFÉRENTS MILIEUX D'ADAPTATION.
VARIATION APRÈS TRANSFERT DANS DES MILIEUX DE SALINITÉ DIFFÉRENTE

MILIEU D'ADAPTATION	CONCENTRATIONS PLASMATIQUES				
	DANS LE MILIEU D'ORIGINE	APRÈS TRANSFERT DE COURTE DURÉE DANS			
		EM	EM1/4	EM1/8	ED
EM :					
Na	188 ± 4,2 (29)		183 ± 5,2 (4)	171 ± 1,4 (4)	136 ± 7,5 (9)
Cl	162 ± 3,3 (29)		160 ± 4,9 (4)	154 ± 2,0 (4)	109 ± 7,3 (9)
EM1/4 :					
Na	165 ± 3,4 (6)	179 ± 1,2 (7)			
Cl	146 ± 1,8 (6)	158 ± 3,7 (7)			
Concentration moyenne (en mEq/l) ± e. s. de la moyenne. La durée du séjour dans le milieu de transfert a été de 30 minutes, sauf pour l'eau douce (180 minutes). Entre parenthèses, le nombre d'animaux.					

lution des flux de sodium après passage d'eau de mer en eau douce et d'eau douce en eau de mer.

Nous rechercherons ensuite l'importance respective de la pression osmotique et de la concentration

ionique du milieu extérieur sur les variations enregistrées dans l'intensité des échanges de sodium.

Enfin, le comportement comparé de l'ion chlore sera étudié dans une dernière partie.

I. — ÉVOLUTION DU FLUX SORTANT DE SODIUM AU COURS DES PASSAGES EM-ED ET ED-EM

Pour étudier le flux sortant de sodium chez le flet soumis à des variations de salinité du milieu extérieur (système en état non stationnaire), nous disposons de deux techniques décrites précédemment (voir chap. I) : la première consiste à suivre l'évolution de la radioactivité γ émise par le poisson placé dans de l'eau de mer, des eaux de mer diluées ou de l'eau douce courantes, la seconde à mesurer, en fonction du temps, la quantité de ^{24}Na apparaissant successivement dans un volume déterminé du milieu d'adaptation, puis dans le même volume du milieu de transfert (technique dite : mesures comparatives).

Ces deux techniques seront utilisées dans ce chapitre.

A. — Passage d'eau de mer en eau douce.

L'étude des variations de $[\text{Na}]_i$ après transfert en eau douce suggère que la réduction du flux sortant est plus importante chez le flet que chez le serran. Combien de temps après le transfert en ED la réduction du flux sortant peut-elle être mise en évidence chez le flet ?

Pour répondre à cette question, nous avons suivi pendant plusieurs heures l'évolution de la radioactivité d'un flet EM mis en ED. La figure 11 illustre une des expériences réalisées : une heure après injection de ^{24}Na dans la cavité intrapéritonéale d'un flet EM, temps nécessaire à l'homogénéisation de l'indicateur nucléaire dans l'espace sodium, le poisson est mis, au-dessus d'un scintillateur à INa , dans un bac alimenté avec de l'eau de mer courante. Après environ 120 minutes, l'eau de mer est brusquement remplacée par de l'eau douce courante. L'expérience est arrêtée 4 à 5 heures après le changement de milieu. La radioactivité d'une partie aliquote du poisson est mesurée pendant toute la durée de l'expérience.

L'examen de cette figure montre que la radioactivité du poisson diminue très rapidement en fonction du temps lorsque le poisson est en eau de mer. Rappelons que, en coordonnées semi-logarithmiques, la pente de la droite représente le taux de renouvellement du sodium interne du flet $\left(\lambda_i = \frac{f_{12}}{a_i V_i}\right)$. Aussitôt après changement de milieu, on constate que la radioactivité du poisson diminue beaucoup plus lente-

ment. En première approximation, il est possible de considérer que les points expérimentaux s'inscrivent à nouveau sur une droite dont la pente serait beaucoup plus faible. Ceci implique que le poisson est quasi instantanément en équilibre avec le nouveau milieu (ED), et que le taux de renouvellement du sodium λ'_i , représenté par la pente de cette droite

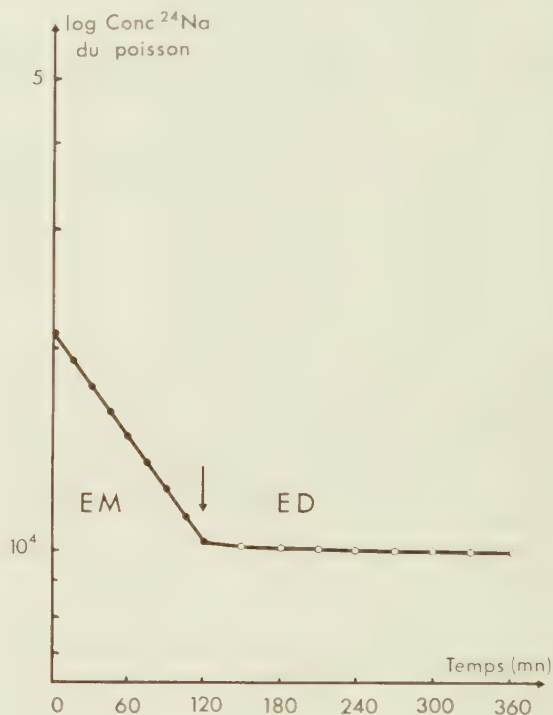


FIG. 11. — Evolution de la radioactivité (^{24}Na) d'un flet au cours du passage d'eau de mer (EM) en eau douce (ED).

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : logarithme de la radioactivité du poisson.

On observe un changement rapide de la pente après passage en ED. (Expérience du 21 février 1961.)

devient quasi instantanément très faible. Le rapport des pentes λ_i/λ'_i correspond au rapport des flux sortants en EM et en ED, car $a_i V_i$ est constant pendant toute la durée de l'expérience, l'espace sodium du poisson V_i étant le même en ED et en EM, et la concentration du sodium plasmatique a_i ne diminuant, faiblement d'ailleurs, qu'après plusieurs heures de séjour en ED (voir tableaux IX et X). On peut donc conclure de l'examen de cette figure que le flux sortant de sodium est réduit presque instantanément après passage en ED et que cette réduction est très importante (MOTAIS, 1961 a).

Cependant, la précision des mesures n'est pas très bonne en eau douce par suite de la faible intensité des échanges entre le milieu extérieur et le poisson (voir chap. I). On constate, notamment, que les points expérimentaux obtenus après transfert en ED ne s'inscrivent que très approximativement suivant une droite, en particulier pendant la première demi-heure. Ceci signifie que le système poisson-eau douce n'est pas instantanément en équilibre.

Pour étudier avec plus de précision la cinétique et l'amplitude de la réduction du flux sortant, nous avons utilisé la technique des « mesures comparatives » (voir chap. I).

La figure 12 illustre une des expériences réalisées dans ces conditions. Elle montre le comportement du flux sortant de ^{24}Na (f_s^*) chez le flet EM au cours de transferts successifs : EM, ED, EM. On constate une réduction très importante et quasi instantanée du f_s^* (15,1 % du flux sortant initial) et sa réversibilité lors du retour en EM. Tenant compte des 3 pentes successives (voir chap. I), on peut calculer qu'en ED le flux sortant vrai (f_s) est réduit à 15,9 % du flux observé en eau de mer.

Six expériences analogues (juin, 16°-18° C) donnent une intensité relative moyenne du flux sortant de sodium après transfert en ED de 15,9 % $\pm$ 2,0.

A la lumière de ces expériences, il apparaît donc que 5 minutes après transfert d'eau de mer en eau douce (temps imposé par nos conditions expérimentales) le flux sortant de sodium est diminué d'environ 85 %.

Nous avons cherché à mesurer le flux sortant radioactif quelques secondes après le changement de milieu pour vérifier si les modifications de f_s , considé-

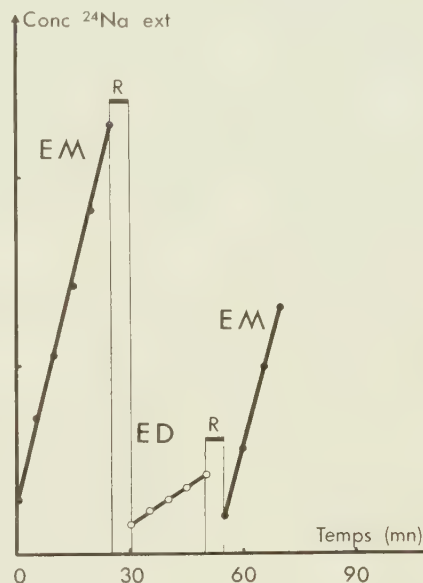


FIG. 12. — Evolution du flux sortant radioactif de sodium chez le flet au cours de passages rapides d'eau de mer (EM) en eau douce (ED). Mise en évidence d'une régulation instantanée réversible.

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

On note une diminution instantanée très importante du flux sortant de sodium après passage en ED ($r = 0,16$). (Expérience du 9 juin 1964.)

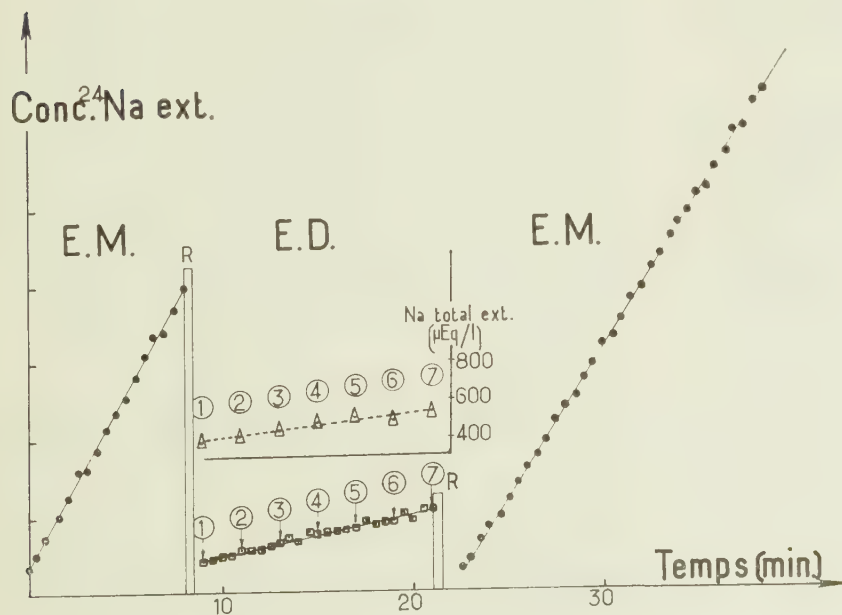


FIG. 13.

Délai d'intervention de la régulation instantanée au cours du transfert d'eau de mer (EM) en eau douce (ED) et d'eau douce en eau de mer. Les mesures de radioactivité sont faites toutes les 30 secondes.

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

On note que la diminution ($r = 0,12$), comme l'augmentation du flux sortant de sodium, s'effectue en moins de 30 secondes après changement de milieu. On peut donc considérer cette régulation comme instantanée.

Pendant le séjour du poisson en ED, 7 prises de liquide externe ont été faites et le sodium total a été dosé (graphique en pointillé). Le flux net mesuré ainsi correspond au flux sortant de sodium. Il est de 0,33 mEq/h/100 g.

rées comme instantanées à une échelle de temps de 5 minutes, pouvaient encore être considérées comme telle à une échelle de temps beaucoup plus courte. La technique utilisée est la même que précédemment, mais les mesures sont effectuées successivement dans deux installations (voir chap. I : expériences de transfert « rapide »). Le temps de rinçage a été réduit à 30 secondes et même à 10 secondes dans deux expériences. La figure 13 illustre une des expériences réalisées dans ces conditions (30 secondes

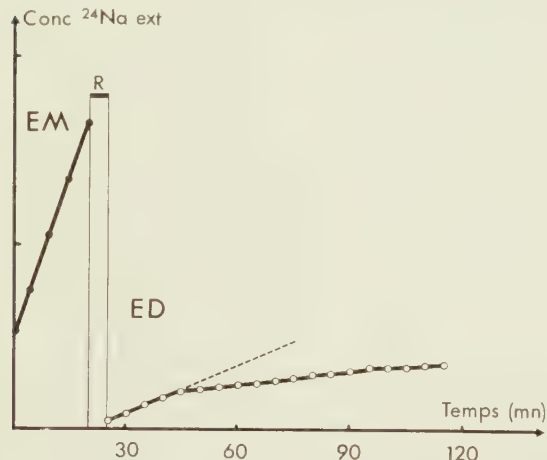


Fig. 14. — Evolution du flux sortant radioactif de sodium chez le flet au cours du transfert EM-ED. Mise en évidence d'une régulation différée.

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

On note une diminution instantanée très importante (86 %) du flux sortant, suivie, après 25 minutes de séjour en ED, d'une seconde diminution. (Expérience du 29 avril 1964.)

de rinçage). On constate que la réduction du flux sortant est effective 30 secondes après le changement de milieu. On peut donc considérer la régulation comme *réellement instantanée*. L'intensité relative du flux sortant en eau douce est de 12 % dans cette expérience. Connaissant la valeur du flux sortant moyen de sodium mesuré chez les flets EM (2,60 mEq/h/100 g), on peut considérer le flux sortant de sodium après transfert en eau douce comme étant égal, dans cet exemple, à 0,314 mEq/h/100 g.

A titre de contrôle, pour vérifier cette technique isotopique, le flux net de sodium a été mesuré au photomètre de flamme pendant le séjour du poisson en eau douce. Rappelons que dans ces conditions expérimentales le flux net de sodium peut être considéré comme le flux sortant, le flux entrant en eau

douce étant négligeable (pendant les premières heures suivant le transfert EM-ED, f_e a été trouvé égal à 0,014 mEq/h/100 g $\pm$ 0,0025 (7 expériences), soit la valeur de f_e chez le flet ED). Dans l'expérience illustrée par la figure 13, le flux net mesuré a été trouvé égal à 0,33 mEq/h/100 g. Cette valeur, obtenue par une méthode non isotopique, correspond bien à celle obtenue par la mesure du rapport des pentes. Si nous tenons compte de toutes les expériences réalisées, on constate que la valeur moyenne de l'intensité relative du flux sortant de sodium après passage EM-ED est de 12,5 % $\pm$ 1,0 (20 expériences), ce qui correspond à une valeur moyenne du flux sortant en eau douce de 0,325 mEq/h/100 g. Parallèlement, la valeur moyenne du flux net de sodium en ED mesuré dans 8 de ces expériences est de 0,315 mEq/h/100 g $\pm$ 0,022. Les résultats obtenus par ces deux techniques sont donc identiques.

Dans une série d'expériences, après avoir transféré des flets d'EM en ED, on a suivi l'apparition du radiosodium dans l'eau douce pendant 1,5 heure environ. La figure 14 illustre une expérience de ce type. Après 30 minutes de séjour en ED, on observe une diminution progressive de la pente de la courbe traçant l'apparition du ^{24}Na dans le milieu externe. Cette diminution de pente traduit une réduction supplémentaire du flux sortant. A la régulation instantanée décrite précédemment fait donc suite, une demi-heure après transfert en ED, une *régulation secondaire différée* (MOTAIS, GARCIA ROMEU et MAETZ, 1965).

Cette diminution du flux sortant radioactif correspond effectivement à une réduction du flux sortant, car le sodium externe est à une radioactivité spécifique nettement inférieure à celle du sodium interne. Nous avons d'ailleurs comparé le flux net de sodium mesuré pendant la deuxième demi-heure de séjour en eau douce au flux net de sodium mesuré pendant la première demi-heure.

Pendant cette deuxième période, le flux net a été trouvé égal à 0,240 $\pm$ 0,026 mEq/h/100 g contre 0,315 $\pm$ 0,022 mEq pendant la première (8 expériences).

B. — Passage d'eau douce en eau de mer.

La figure 15 représente l'évolution de la radioactivité (^{24}Na) de deux flets d'origine différente au cours de changements de milieu externe (aquarium alimenté en EM ou en ED courantes; échelle semi-logarithmique).

L'évolution de la radioactivité du flet A, adapté à EM, est suivie d'abord en EM (1,5 heure), puis en ED (1/2 heure) et à nouveau en EM (2 heures). On observe, comme dans le paragraphe précédent, une diminution très importante et instantanée du flux sortant de sodium au moment du passage en ED. Lorsque, après une demi-heure, le poisson est à nouveau remis en EM, le flux sortant augmente immédiatement et atteint aussitôt une valeur voisine de celle observée pendant la première période (pentes (1) et (3) sensiblement parallèles).

Ainsi, pour le poisson A, ayant séjourné simplement une demi-heure en ED, le flux sortant augmente instantanément et atteint la valeur caractéristique des poissons adaptés à l'eau de mer. La régulation instantanée observée lors du passage EM-ED est dans ces conditions parfaitement réversible. Le flet B est un poisson adapté à l'ED depuis 30 heures. On cons-

n'est plus réversible et l'adaptation se fait de manière progressive.

Pour étudier la cinétique de cette adaptation il

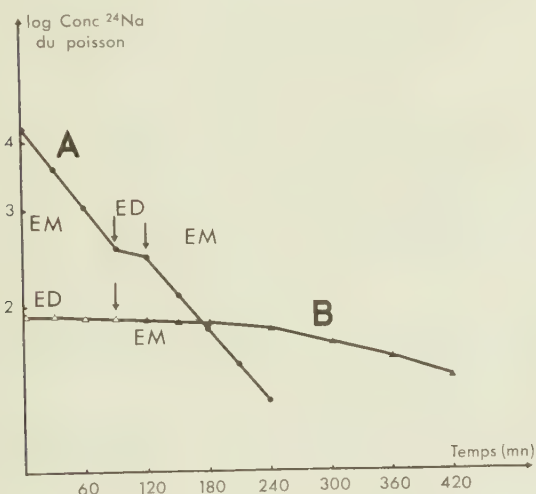


FIG. 15. — Evolution de la radioactivité (^{24}Na) de deux flets d'origine différente au cours des changements de milieu.

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : logarithme de la radioactivité du poisson.

Flet A : adapté à EM. On note le changement rapide des pentes lors du passage EM-ED. Après une demi-heure de séjour en ED, le flet est remis en EM. La pente est parallèle à celle de la 1^{re} période. (Expérience du 8 mars 1961.)

Flet B : le poisson est en eau douce depuis plus d'un jour (30 heures). On note que le réajustement du flux sortant de sodium après retour en EM est très lent et progressif. (Expérience du 17 mars 1961.)

tate que le flux sortant de sodium n'augmente que très lentement lorsque l'eau douce est remplacée par de l'eau de mer. Dans ces conditions, la régulation



FIG. 16. — Influence de la taille des flets sur l'évolution du flux de sortie de sodium au cours de la réadaptation à l'eau de mer.

En abscisses : temps écoulé depuis le passage d'ED en EM, en heures.

En ordonnées : fraction de sodium échangeable du poisson renouvelée par heure.

Tous les flets ont séjourné en ED pendant 2,5 jours. Le poids des flets est exprimé en grammes. Les taux d'échange de sodium en eau douce n'ont pas été représentés. Température 18°. (Expérience de mars 1961.)

On note que le flux de sortie varie d'autant plus lentement que le poids du poisson est plus élevé.

convient, à partir des courbes expérimentales, de calculer graphiquement le taux de renouvellement du sodium d'heure en heure (voir chap. I).

Cette analyse montre que la vitesse de réadaptation du flux sortant lors du passage ED-EM est d'autant plus grande que le poisson est plus petit (fig. 16) (MOTAIS et MAETZ, 1964). Mais il faut surtout noter que, pour des animaux de même poids, elle est d'autant plus lente que le temps de séjour en ED a été plus long (MOTAIS, 1961 b). La figure 17 illustre cette « inertie » croissante pour 4 flets de 180 g remis en eau de mer au même instant, après avoir séjourné en

eau douce respectivement 3,5 heures, 2,5 jours, 5 jours et 12 jours.

Dans une autre série d'expériences, nous avons mesuré, par la technique des mesures comparatives, le flux sortant de 5 flets adaptés à l'eau douce depuis 10 jours et mis brusquement en eau de mer : la valeur moyenne mesurée *immédiatement* après transfert est de 0,083 mEq/h/100 g alors qu'en eau douce le

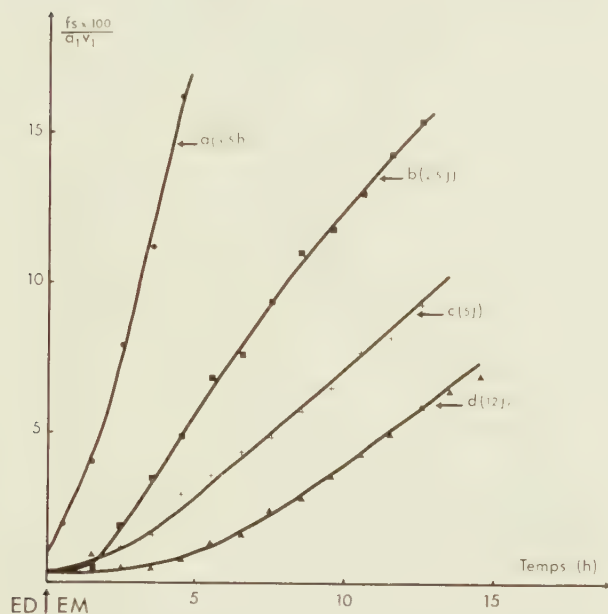


FIG. 17. — Influence de la durée de séjour en eau douce sur l'évolution du flux sortant de sodium après retour en eau de mer.

En abscisses : temps écoulé depuis le passage d'ED en EM, en heures.

En ordonnées : fraction de sodium échangeable du flet renouvelée par heure.

La durée de la période d'adaptation préalable en eau douce figure entre parenthèses (3,5 heures à 12 jours) ; $t = 18^\circ \text{C}$. (Expérience de février-mars 1961.)

On note que le flux sortant varie d'autant plus lentement que la durée de séjour en ED a été plus longue.

flux sortant était de $0,022 \pm 0,003$ (5 animaux). Comme après passage EM-ED, on observe donc une régulation instantanée du flux sortant, mais elle est ici de très faible amplitude.

EN RÉSUMÉ. — Le PASSAGE EM-ED entraîne chez le flet une réduction immédiate (*régulation instantanée*) du flux sortant de sodium, de l'ordre de 85 à 90 % ; après une demi-heure de séjour en eau douce, le flux sortant diminue à nouveau progressivement (*régulation différée*).

Cette régulation différée semble correspondre à une action profonde sur l'épithélium branchial. En effet, au cours de PASSAGE INVERSE ED-EM, on constate également une augmentation instantanée du flux sortant de sodium (*régulation instantanée*). Cependant, l'amplitude de cette augmentation varie avec la durée du séjour en eau douce : si cette durée est inférieure à 30 minutes, le réajustement de f_s est immédiatement réversible. Si cette durée dépasse 30 minutes (c'est-à-dire après intervention de la régulation différée), le réajustement de f_s se fait en deux étapes : augmentation instantanée complétée par une augmentation progressive (*régulation différée*).

II. — ÉVOLUTION DU FLUX SORTANT DE SODIUM LORS DU PASSAGE D'EAU DE MER EN EAU DOUCE ISOTONIQUE À L'EAU DE MER

Les expériences qui viennent d'être rapportées montrent clairement que le changement de composition du milieu extérieur entraîne instantanément une modification du flux sortant de sodium, bien que la concentration du sodium plasmatique n'ait pas varié : à une augmentation de la salinité correspond une augmentation du flux sortant, et à une diminution de la salinité correspond une diminution du flux sortant.

Pour étudier la nature de cet asservissement du flux sortant au milieu extérieur, nous avons été conduit tout d'abord à dissocier l'action éventuelle de la pression osmotique de celle de la composition ionique du milieu extérieur. Dans ce dessein, le flux sortant de sodium a été mesuré après transfert du poisson en eau douce rendue isotonique à l'eau de mer par addition de mannitol.

Dans une première série expérimentale, comme dans le cas du transfert d'eau de mer en eau douce, nous avons suivi l'évolution du flux sortant pendant plusieurs heures. La figure 18 illustre une de ces expériences au cours desquelles on mesure la radioactivité (^{24}Na) d'un flet placé dans un aquarium alimenté successivement en eau de mer courante puis en eau douce additionnée de mannitol (le volume d'eau douce plus mannitol correspond à environ 70 fois le poids du poisson). On constate que le flux sortant de sodium diminue instantanément après passage en eau douce plus mannitol, et reste faible

pendant les 4 heures de séjour dans ce milieu. Des prélèvements de sang ont été faits sur le même animal au début et à la fin de cette expérience. On constate que la pression osmotique est plus élevée en fin d'expérience, ce qui suggère une déshydratation du poisson. Cependant, la concentration du sodium plasmatique n'est pas augmentée. Le tube digestif est anormalement gonflé d'eau. Le tableau XI résume les résultats des dosages effectués dans ces conditions sur 2 poissons (la figure 18 représente l'évolution de la radioactivité du flet A). Nous avons également consigné dans le tableau XI les résultats obtenus sur 5 poissons témoins en EM et 4 flets maintenus pendant 4 heures en eau douce isotonique à l'eau de mer. On remarque à nouveau une augmentation significative de la pression osmotique du plasma après 4 heures de séjour dans ce milieu, sans modification significative de la concentration du sodium plasmatique.

Ces résultats appellent quelques commentaires :

1° En ce qui concerne les échanges de sodium entre le poisson et le milieu extérieur, on remarque que le transfert EM-ED plus mannitol entraîne immédiatement une réduction très importante du flux sortant de sodium. Nous essaierons de préciser dans quelques expériences ultérieures l'importance de cette réduction.

2° Récemment, SHARRATT *et al* (1964 *b*) ont montré que l'anguille plongée dans une solution de sucrose isotonique à l'eau de mer se déshydrate, et meurt après 12 à 48 heures de séjour dans ce milieu. Le tube digestif est rempli d'eau contenant du sucrose et du sodium. La concentration du sucrose dans le

tube digestif est plus faible que celle du liquide externe et, inversement, la concentration de sodium dans le tube digestif est plus élevée que dans la solution externe. Le marquage de la solution externe par du rouge de phénol leur permet de conclure :

a) que le poisson boit de la solution de sucrose, ce qui prouve que l'absence d'électrolytes dans le

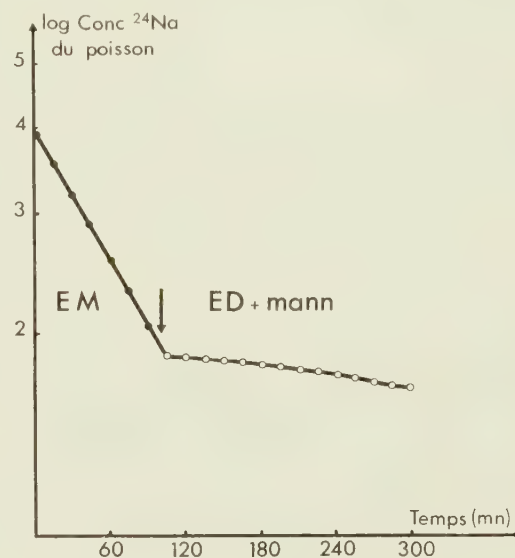


FIG. 18. — Evolution de la radioactivité (²⁴Na) d'un flet au cours du passage d'eau de mer (EM) en eau douce rendue isotonique à l'eau de mer par addition de mannitol (ED + mannitol).

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : logarithme de la radioactivité du poisson.

On note un changement rapide de la pente après passage en ED + mannitol. (Pression osmotique de la solution : 1 000 mOsm. *t* = 16° C. Expérience du 15 novembre 1963.)

TABLEAU XI. — INFLUENCE D'UN SÉJOUR DE 4 HEURES EN EAU DOUCE ISOTONIQUE A L'EAU DE MER (ED + mannitol) SUR LA PRESSION OSMOTIQUE (mOsm/l) ET LA CONCENTRATION DU SODIUM ET DU CHLORE PLASMATIQUES (mEq/l) DU FLET

DATES		Cl	Na	P. O.
10 avril 1961.	Témoins (flets en EM).....		155 ± 6,1 (n = 5)	332 ± 17,2 (n = 5)
	Flets en ED + mannitol		154 ± 6,5 (n = 4)	402 ± 1,5 (n = 4)
15 nov. 1963.	Flet A :			
	— avant l'expérience	148	160	325
	— à la fin de l'expérience	135	163	390
	Flet B :			
	— avant l'expérience	140	168	320
	— à la fin de l'expérience	131	150	375

milieu externe ne supprime pas le réflexe de boire qui est vraisemblablement commandé par la déshydratation des tissus;

b) qu'il y a un flux d'eau des tissus vers la lumière du tube digestif;

c) que ce flux d'eau est accompagné d'un flux de sodium, également des tissus vers le tube digestif.

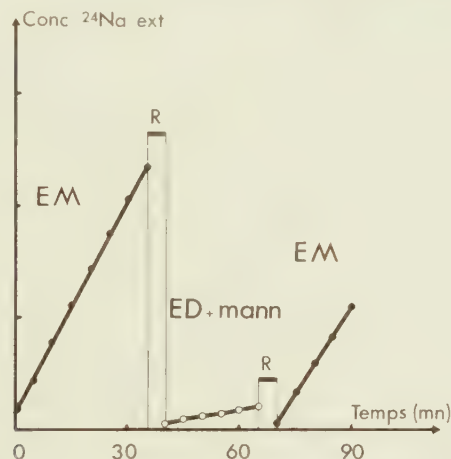


FIG. 19. — Evolution du flux sortant radioactif de sodium chez le flet au cours de passages rapides d'eau de mer (EM) en eau douce isotonique à l'eau de mer (ED + mannitol).

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

On note une diminution instantanée ($r = 0,106$) du flux sortant de sodium après passage en eau douce additionnée de mannitol. (Expérience du 30 avril 1964.)

Nos observations sont en accord avec ces résultats. Rappelons que, chez le poisson marin vivant dans son milieu naturel, l'eau de mer bue est d'abord rendue isosmotique au sang par suite d'un flux osmotique d'eau des cellules vers la lumière du tube digestif. Ce n'est qu'après ce réajustement osmotique que l'eau est entraînée par les électrolytes à travers la muqueuse intestinale, vers les tissus de l'organisme. L'absence quasi totale de sodium dans le liquide intestinal des animaux plongés dans des solutions de sucrose ou de mannitol explique vraisemblablement le gonflement du tube digestif : l'eau ne peut alors traverser l'épithélium intestinal.

Dans une seconde série expérimentale, illustrée par la figure 19, nous avons mesuré le flux sortant de sodium pendant la demi-heure suivant le changement de milieu (EM-ED plus mannitol) pour évaluer l'importance de la diminution instantanée.

La réduction du flux sortant atteint en moyenne

$84 \% \pm 2,2$ (5 expériences). Le résultat est tout à fait comparable à ce que l'on observe au cours du passage EM-ED (réduction de $84,1 \% \pm 2,0$ (6 expériences)).

Ces résultats nous permettent de conclure que la pression osmotique du milieu extérieur n'a pas d'action propre sur le flux sortant de sodium chez le flet.

Nous avons donc tenté de préciser l'importance de la concentration et de la composition ionique du milieu extérieur.

III. — INFLUENCE DE LA VARIATION DE LA SALINITÉ DU MILIEU EXTÉRIEUR SUR L'INTENSITÉ DES FLUX ENTRANT ET SORTANT DE SODIUM

A. — Représentation cinétique de l'évolution du flux sortant de sodium au cours du transfert EM-EM1/4.

Dans quelques expériences, nous avons suivi, pendant 25 à 30 heures, l'évolution du flux sortant de sodium d'un flet adapté à l'eau de mer et mis en EM1/4 (330 mOsm, 140 mEq Na/l), milieu isotonique au sang du poisson.

La figure 20 illustre l'une de ces expériences au

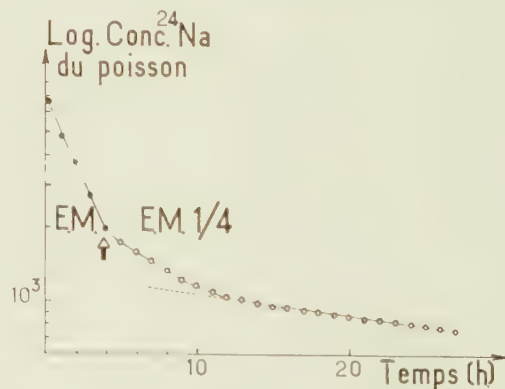


FIG. 20. — Evolution de la radioactivité (^{24}Na) d'un flet au cours du passage d'eau de mer (EM) en eau de mer 1/4 (EM 1/4).

En abscisses : temps en heures.

En ordonnées : logarithme de la radioactivité du poisson.

On observe une modification instantanée de la pente qui est cependant moins importante qu'après transfert en ED. Le flux sortant continue à diminuer lentement pendant plusieurs heures. (Expérience du 19 janvier 1961.)

cours desquelles on mesure la radioactivité (^{24}Na) d'un flet placé dans un aquarium alimenté successivement en EM courante puis en EM1/4 courante.

La comparaison de cette figure avec la figure 11 montre que le flux sortant diminue instantanément, mais que cette *régulation instantanée* est nettement moins importante qu'au cours du transfert d'EM en ED. On constate ensuite que le flux sortant continue à diminuer peu à peu pendant 7 à 8 heures pour devenir ensuite constant. Il y a encore ici intervention d'une *régulation secondaire*. Cependant, le système étant constitué de 3 compartiments en état non stationnaire, l'étude cinétique de la régulation secondaire ne peut être réalisée dans ces conditions.

Nous allons maintenant examiner plus précisément l'importance de la régulation instantanée en fonction de la salinité externe.

B. — Importance de la régulation instantanée en fonction de la variation de salinité.

Nous avons mesuré, chez des flets adaptés à différents milieux (EM, EM1/2, EM1/4 et ED), les flux sortant et entrant de sodium lorsque les poissons

sont plongés brusquement dans un milieu autre que le milieu d'adaptation.

Les flux ont été mesurés pendant la demi-heure qui suit le transfert. Les flux sortants, qui sont calculés indirectement à partir du flux sortant mesuré dans chacun des milieux d'adaptation qui sert de référence (mesures comparatives), sont consignés dans le tableau XII. Les flux entrants, obtenus par la technique des prises de sang, figurent dans le tableau XIII.

A partir de ces données expérimentales, il est possible de tracer les figures 21 et 22 qui illustrent l'évolution des flux entrant, f_e , et sortant, f_s , en fonction, d'une part, du milieu d'origine et, d'autre part, du milieu dans lequel la mesure de flux est faite. Ces résultats appellent quelques commentaires.

1° Il apparaît d'abord que f_e et f_s , chez les animaux en équilibre avec une eau de mer de dilution déterminée, sont très différents de ceux des animaux plongés brusquement dans cette même eau, mais provenant d'un autre milieu d'adaptation. D'une façon générale, mesurés dans un milieu donné, les flux des animaux en déséquilibre sont plus élevés que ceux des poissons adaptés lorsque ces animaux proviennent d'un milieu plus concentré, et plus faibles lorsqu'ils proviennent d'un milieu plus dilué.

TABLEAU XII. — INTENSITÉ DES FLUX SORTANTS DE SODIUM CHEZ DES FLETS ADAPTÉS A DIVERS MILIEUX ET LEUR VARIATION APRÈS TRANSFERT DANS DES MILIEUX DE SALINITÉ DIFFÉRENTS

MILIEU D'ORI- GINE DU POISSON	MILIEU DANS LEQUEL LE FLUX * EST MESURÉ								
	1,5/1	1/1	3/4	1/2	1/3	1/4	1/6	1/8	1/1 000
1/1	3,18 [122 ± 14,1] (2)	2,60 [100] (6)	2,36 [91,0 ± 11,0] (7)	2,08 [80,0 ± 10,2] (6)	1,50 [58,0 ± 7,3] (3)	1,20 [46,0 ± 5,6] (3)			0,31 [11,8 ± 1,4] (3)
1/2		1,10 [114,0 ± 13,3] (3)		0,97 [100] (6)		0,60 [61,5 ± 11,5] (3)	0,52 [54,0 ± 6,3] (3)	0,46 [47,0 ± 8,0] (3)	0,24 [25,0 ± 4,9] (3)
1/4		0,28 [175,0 ± 40,4] (7)		0,24 [150,0 ± 34,2] (7)	0,21 [131,0 ± 32,2] (4)	0,16 [100] (9)	0,15 [94,0 ± 26,8] (4)		0,09 [56,0 ± 13,7] (6)
1/1000		0,083 [378 ± 146] (5)		0,047 [214,0 ± 30,9] (5)		0,040 [182,0 ± 47,0] (5)		0,030 [136,5 ± 26,4] (5)	0,022 ± 0,0030 [100] (5)

Le nombre d'animaux est donné entre parenthèses.

Toutes les concentrations de sodium sont données par rapport à la concentration de l'eau de mer (1/1 000 représente la concentration du sodium de l'eau du robinet).

* Les flux, exprimés en mEq/h/100 g, sont calculés d'après l'intensité relative observée par rapport au milieu d'origine pris comme base 100.

Entre crochets, la valeur moyenne de l'intensité relative ± e. s. de la moyenne.

TABLEAU XIII. — INTENSITÉ DES FLUX ENTRANTS DE SODIUM CHEZ DES FLETS ADAPTÉS A DIVERS MILIEUX ET LEUR VARIATION APRÈS TRANSFERT DANS DES MILIEUX DE SALINITÉ DIFFÉRENTS

MILIEU D'ORIGINE DU POISSON	MILIEU DANS LEQUEL LE FLUX EST MESURÉ					
	1/1	1/2	1/4	1/6	1/8	Eau DISTILLÉE
1/1	2,25 ± 0,08 (8)	2,0 ± 0,08 (4)	1,36 ± 0,12 (8)		0,56 ± 0,026 (4)	0
1/2	0,93 ± 0,038 (8)	0,69 ± 0,076 (7)	0,31 ± 0,038 (4)	0,22 ± 0,03 (4)		0
1/1 000	0,430 ± 0,030 (4)	0,475 ± 0,030 (4)	0,310 ± 0,030 (4)			0 * 0,014 ± 0,0016 (10)

* Lorsque la concentration du sodium externe est de 0,450 mEq/l (eau du robinet). Dans tous les cas en eau distillée, le flux entrant est admis comme étant égal à 0.
Explication du tableau : voir tableau XII.

Ainsi, par exemple, le flux de sortie des flets adaptés à EM1/2 est dans EM1/2 de 0,965 mEq/h/100 g, alors que dans ce même milieu les flets adaptés à EM présentent un flux de 2,10 mEq/h/100 g et les flets adaptés à EM1/4, un flux de 0,242 mEq/h/100 g. On remarque en effet que la courbe caractéristique

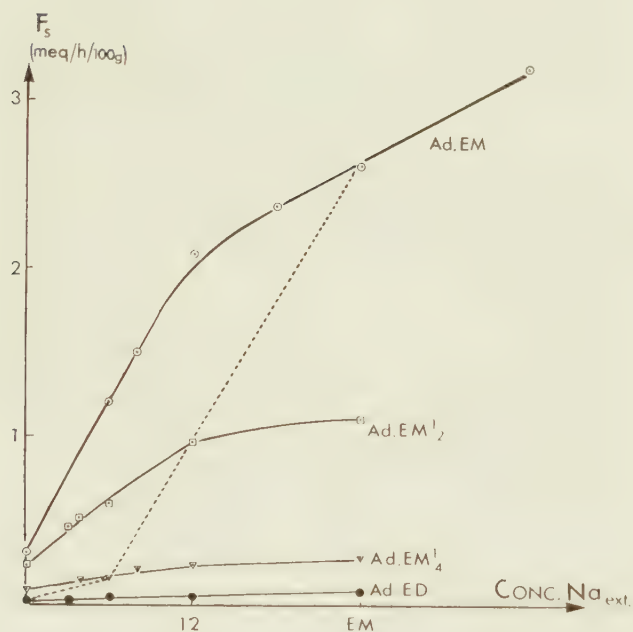


FIG. 21. — Evolution des flux sortants de sodium chez le flet adapté à divers milieux en fonction de la concentration du sodium externe.

Les concentrations de sodium sont exprimées par rapport à celle de l'eau de mer qui sert de référence.

Milieux d'adaptation : EM, EM1/2, EM1/4, ED.

Courbes continues : intensité relative des flux pendant les 30 minutes suivant le passage brusque dans un milieu différent du milieu d'origine.

Courbe en pointillé : évolution des flux dans les milieux d'origine (flets en équilibre avec le milieu).

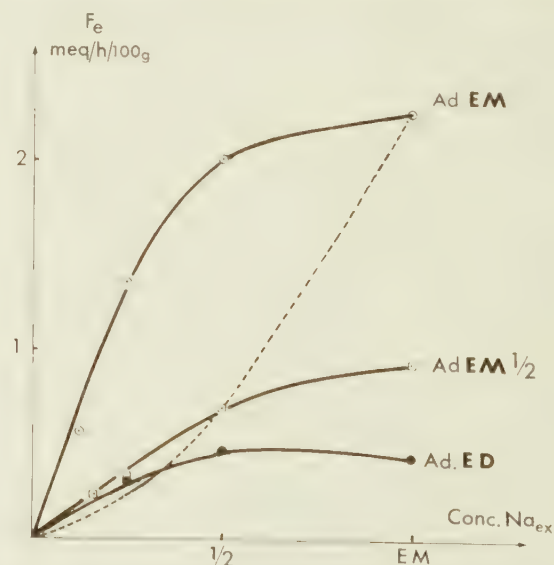


FIG. 22. — Evolution des flux entrants de sodium chez le flet adapté à divers milieux en fonction de la concentration du sodium externe.

Les concentrations de sodium sont exprimées par rapport à celle de l'eau de mer qui sert de référence.

Les mesures ont été faites après 30 minutes de séjour dans le milieu. Milieux d'adaptation : EM, EM1/2, ED.

de la fonction liant le flux (entrant ou sortant) à $[Na]_{ext}$ chez les animaux à l'équilibre (voir la figure 11; cette courbe est représentée en pointillé sur les figures 21 et 22) est très différente des courbes qui tracent l'évolution immédiate des flux (entrant ou sortant) en fonction de $[Na]_{ext}$ pour des animaux soumis à des variations de salinité.

2° Le changement de milieu extérieur se traduit instantanément par une modification de l'intensité du flux de sortie. On observe une augmentation du flux sortant si le nouveau milieu est plus concentré, et une diminution s'il est moins concentré que le milieu d'origine. Le flux de sortie paraît donc varier en fonction de la concentration des électrolytes du milieu extérieur et non en fonction de la concentration du sodium interne qui reste à peu près constante.

3° Les courbes des figures 20 et 21 montrent que f_s et f_e évoluent parallèlement lorsque les poissons sont soumis à des changements de milieu. Par exemple, le passage EM-EM1/4 pour les flets EM entraîne une diminution de 50 % pour f_s et de 40 % pour f_e . De même, chez le flet EM après passage en ED, le flux entrant devient nul et le flux sortant est réduit de 90 %.

IV. — COMPORTEMENT COMPARÉ DU SODIUM ET DU CHLORE AU COURS DES CHANGEMENTS DE MILIEU

Deux problèmes se posent maintenant. D'une part, nous venons de voir que le flux sortant de sodium est modifié instantanément si la concentration des électrolytes externes varie. Il convient évidemment de dissocier dans la mesure du possible l'influence des deux principaux électrolytes du milieu externe, à savoir : le sodium et le chlore.

D'autre part, il reste à connaître, au cours de ces changements de milieu, le comportement du chlore qui est l'ion accompagnant le sodium. Nous avons montré qu'il était probable que chez le flet ED, comme chez le Cyprin, les mécanismes d'absorption du sodium et du chlore étaient indépendants.

Nous ignorons s'il en est de même chez le flet EM. Cependant, le sodium étant renouvelé deux fois plus rapidement que le chlore (voir chap. III), une partie des échanges de sodium doit s'effectuer indépendamment.

A. — Comportement du flux sortant de Cl lors de passages brusques EM-ED et EM-ED additionnée de mannitol.

On observe une diminution importante et instantanée des flux sortants de chlore, de l'ordre de 80 à 90 % aussi bien après passage en ED, qu'en ED isotonique à l'eau de mer.

Le tableau XIV (colonnes de gauche) collationne l'ensemble des résultats des expériences de ce type, qui montrent que le comportement du sodium et du chlore est similaire et que la pression osmotique du milieu externe n'a pas d'action propre.

TABLEAU XIV. — INTENSITÉ RELATIVE DES FLUX SORTANTS (moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne) DE Na ET DE Cl AU COURS DU PASSAGE RAPIDE DANS DIFFÉRENTS MILIEUX. LES FLUX EN EM SONT PRIS COMME BASE 100. (Expériences d'avril à juin 1964, température 15-18° C.)

ELECTRO- LYTE ÉTUDIÉ	MILIEU DANS LEQUEL LA MESURE A ÉTÉ EFFECTUÉE			
	ED	ED + mann	CaCl ₂	Na ₂ SO ₄
Na	15,9 $\pm$ 2,0 (6)	16,4 $\pm$ 2,2 (5)	11,7 $\pm$ 2,5 (4)	106,0 $\pm$ 12,1 (5)
Cl	16,0 $\pm$ 3,0 (4)	14,5 $\pm$ 2,5 (4)	72,6 $\pm$ 7,5 (5)	26,4 $\pm$ 3,1 (5)

Le nombre d'animaux est donné entre parenthèses.

B. — Comportement des flux sortants de sodium et de chlore lors de passages brusques dans des solutions contenant soit du sodium, soit du chlore.

Pour tenter de dissocier les mécanismes de transport du sodium et du chlore, nous avons utilisé des solutions isotoniques à l'eau de mer, mais contenant un seul de ces deux ions et un ion accompagnant présumé imperméant (SO_4^{--} ou Ca^{++}) : solution de Na_2SO_4 et de $CaCl_2$ (voir GARCIA ROMEU et MAETZ, 1964).

On constate qu'après transfert EM-solution de Na_2SO_4 le flux sortant de sodium reste inchangé,

tandis que le flux de chlore est fortement diminué (fig. 23).

Inversement, en l'absence de sodium dans le milieu extérieur (transfert EM-solution de CaCl_2)

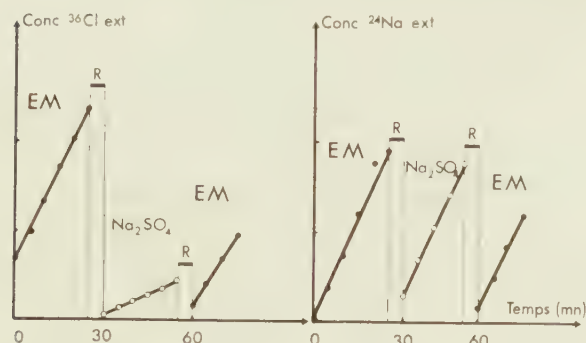


FIG. 23. — Influence d'une solution de sulfate de sodium sur les flux sortants radioactifs de Cl (figure de gauche) et de Na (figure de droite) chez le flet.

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

Figure de gauche : $r = 25$ (expérience du 22 juin 1964).

Figure de droite : $r = 102$ (expérience du 11 mars 1964).

On note que le flux sortant de chlore est fortement diminué en présence de sulfate de sodium, tandis que le flux sortant de sodium n'est pas modifié.

C. — Conclusion.

Les mécanismes d'échanges du Cl^- et du Na^+ sont indépendants puisqu'il est possible de réduire expérimentalement le flux sortant de chlore sans modifier le flux sortant de sodium et inversement.

En outre, il devient évident que le flux sortant de sodium varie en fonction de la concentration du sodium du milieu externe et que, réciproquement, le flux sortant de chlore est fonction de la concentration de chlore du milieu externe.

V. — DISCUSSION

De cet ensemble de résultats expérimentaux, un certain nombre de conclusions peuvent être dégagées, qui nous permettront ultérieurement de comprendre les mécanismes qui contrôlent la perméabilité branchiale chez le flet.

1° Les modifications instantanées de l'intensité du flux sortant d'un électrolyte (Na ou Cl) dépendent de la concentration de ce même électrolyte dans le milieu externe.

FIG. 24.

Influence d'une solution de chlorure de calcium sur les flux sortants radioactifs de chlore (figure de gauche) et de sodium (figure de droite) chez le flet.

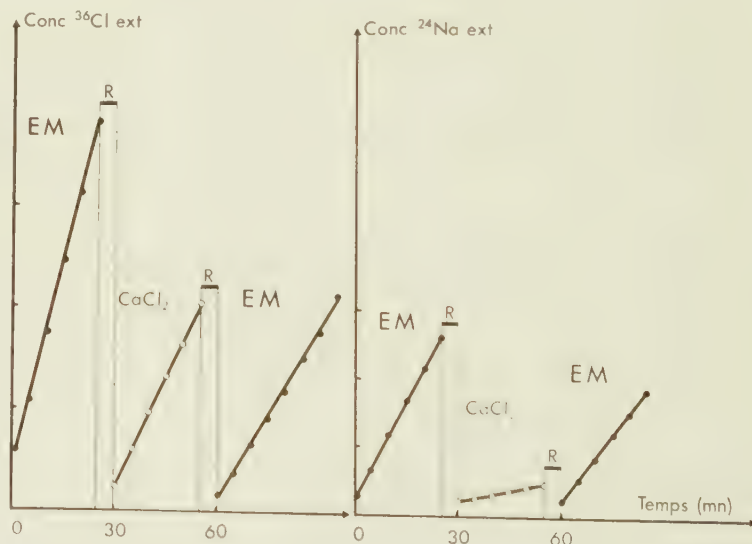
En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

Figure de gauche : $r = 71$ (expérience du 27 avril 1964).

Figure de droite : $r = 13$ (expérience du 15 avril 1964).

On note que le flux sortant de sodium est fortement diminué en présence de chlorure de calcium, tandis que le flux de chlore est peu modifié.



(fig. 24), le flux sortant de sodium subit une diminution de l'ordre de 90 %, tandis que le flux sortant de chlore est réduit seulement de 25 % (diminution d'ailleurs significative $t = 3,8$ $P = 2$ %).

Le tableau XIV (colonne de droite) résume les résultats obtenus.

Le changement de milieu extérieur entraîne instantanément une modification de l'intensité du flux de sortie de sodium et cette variation est fonction, non de la concentration du sodium plasmatique qui reste constante, mais de la concentration du sodium externe.

De façon tout à fait similaire, le flux sortant de chlore dépend de la concentration du chlore du milieu extérieur.

2° Existence de flux couplés Na^+/Na^+ et Cl^-/Cl^- .

La disparition de l'ion sodium dans le milieu externe entraîne la chute du flux sortant de sodium, tandis que le flux sortant de chlore reste inchangé et inversement. Dans ces conditions, l'électroneutralité des milieux externe et interne, de part et d'autre de l'épithélium branchial, ne peut être obtenue que par un échange sodium interne contre sodium externe (Na^+/Na^+) et chlore interne contre chlore externe (Cl^-/Cl^-), ce qui correspond vraisemblablement à un couplage des flux entrant et sortant pour chacun des électrolytes. Le couplage des flux entrant et sortant de sodium est illustré par les figures 21 et 22 où l'on constate que ces deux flux évoluent parallèlement lorsqu'on modifie le milieu extérieur.

Néanmoins, bien que ces flux évoluent parallèlement, la comparaison des valeurs absolues des flux en chaque point de ces courbes montre que flux entrants et sortants ne sont pas égaux, ce qui nous conduit à faire deux observations.

a) La comparaison des flux entrant et sortant de sodium chez les flets adaptés à l'eau douce et transférés dans diverses dilutions d'eau de mer fait apparaître la prépondérance du flux entrant sur le flux sortant. Le rapport f_e/f_s , qui est de l'ordre de 5 à 10, passe d'ailleurs par un maximum pour EM1/2. Chez ces poissons, l'importance des échanges Na^+/Na^+ est de toute évidence négligeable.

Rappelons que nous avons montré précédemment que, chez les flets ED, le mécanisme d'absorption des ions sodium et chlore correspond vraisemblablement à un mécanisme d'échange $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ et $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$.

b) Envisageons maintenant le cas des flets adaptés à EM, EM1/2 et EM1/4. Nous avons discuté dans le chapitre III de la différence observée entre les flux entrants et sortants chez les flets adaptés à l'eau de mer et à l'eau de mer 1/2, et montré qu'elle correspond peut-être (car elle n'est pas très significative) à un flux net d'excrétion branchial qui compense le flux net d'absorption (eau de boisson). Cette différence pour ces 2 groupes d'animaux en équilibre avec leur milieu est d'environ 0,30 mEq/h/100 g. Elle se retrouve également au cours des changements rapides de milieu externe et, notamment, lorsque les poissons sont plongés dans de l'eau douce. En effet,

dans ces conditions le flux entrant est quasi nul et le flux sortant est de l'ordre de 0,24 à 0,31 mEq/h/100 g. Cette différence existe également, mais nettement plus faible chez les flets EM1/4 (0,09 mEq). Il est à prévoir en effet que plus le milieu d'adaptation se rapproche de l'isotonie, moins grande est la quantité d'eau de mer bue par le poisson pour compenser des pertes osmotiques d'eau.

3° Le flux sortant de sodium peut être divisé en deux composantes, l'une indépendante et l'autre dépendante du sodium du milieu extérieur.

Ainsi, au cours des changements rapides de milieu, le flux de sortie branchial est modifié mais la fraction de ce flux, qui compense le flux net d'absorption intestinal, reste presque inchangé. Le flux de sortie branchial de sodium peut donc être divisé en deux composantes correspondant vraisemblablement à des mécanismes différents :

— une fraction de l'ordre de 80 % du flux sortant total dépend de la concentration du sodium externe et évolue comme le flux entrant branchial :

— une fraction ne dépend pas directement de la concentration du sodium externe.

Cependant, cette fraction est réduite progressivement au cours de la régulation différée, comme nous allons le voir maintenant.

4° Régulation instantanée et régulation différée. Dans les figures 21 et 22, les courbes en pointillé représentent l'évolution des flux (entrant ou sortant) en fonction de la concentration de $[\text{Na}]_{\text{ext}}$ pour des flets en équilibre avec le milieu (animaux adaptés). Si l'on examine l'évolution des flux au cours des changements brusques de milieu (courbes en trait plein), on constate que, si le changement est effectué vers un milieu plus dilué, la courbe des variations de flux se situe au-dessus de la courbe d'équilibre et en dessous si le changement se fait vers un milieu plus concentré.

Tout changement de milieu correspond donc à deux phénomènes de régulation, aussi bien pour f_e que pour f_s .

Une première régulation qui diminue ou augmente *instantanément* le flux, suivie d'une seconde régulation qui, en quelques heures ou en quelques jours, agit de façon que les flux atteignent leur valeur d'équilibre pour un milieu déterminé. On observe donc, comme dans le cas des transferts EM-ED et ED-EM, une régulation instantanée complétée par une régulation différée. L'importance relative des

deux types de régulation varie suivant le sens du changement de milieu et suivant la différence de concentration en électrolytes du milieu d'adaptation et du milieu de transfert.

Pour illustrer ces observations, nous avons représenté dans la figure 25 le diagramme des différents types de régulation observés chez un flet soumis à deux changements de milieu : transfert dans un

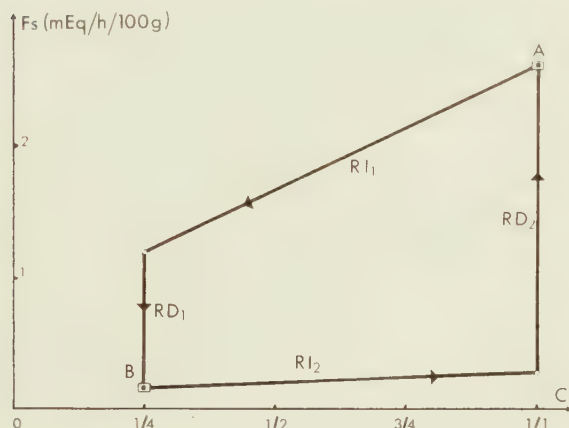


FIG. 25. — Diagramme représentant les différents types de régulation observés chez le flet lors d'un changement de milieu.

En abscisses : concentrations du sodium externe, exprimées par rapport à celle de l'EM (1/1) pris comme référence.

En ordonnées : flux sortant de sodium en mEq/h/100 g.

Le poisson adapté à l'eau de mer (A) est transféré en EM1/4. Le flux sortant diminue *instantanément* (régulation instantanée RI_1). Peu à peu le flux va encore diminuer pour atteindre la valeur caractéristique des flets adaptés à EM1/4. Cette seconde diminution correspond à la régulation différée RD_1 . Si nous plaçons brusquement le flet B, adapté à l'EM1/4, dans l'eau de mer, nous observons une augmentation *instantanée* mais peu importante du flux sortant (régulation instantanée RI_2), puis un accroissement plus lent du flux sortant correspondant à la régulation différée RD_2 .

milieu hypotonique puis dans un milieu hypertonique à son milieu d'adaptation. Le flet adapté à EM est mis brusquement en EM1/4 : le flux sortant passe instantanément de 2,60 à 1,2 mEq/h/100 g. C'est la régulation instantanée RI_1 . Après adaptation à EM1/4, on constate que le flux sortant est alors de 0,16 mEq/h/100 g. Il y a eu intervention d'une régulation différée RD_1 . Si, après adaptation à EM1/4, on remet le poisson en EM, on observe à nouveau une régulation instantanée RI_2 , mais de faible amplitude (le flux sortant passe de 0,16 à 0,28 mEq/h/100 g)

suivie d'une régulation différée RD_2 (le flux sortant de sodium atteint la valeur caractéristique des flets adaptés à EM soit 2,60 mEq/h/100 g).

Ici également, comme dans le cas du flet adapté à ED, on constate que la régulation différée RD_1 a modifié la perméabilité de l'épithélium branchial au sodium car, lors du retour en EM, le réajustement du flux sortant n'est pas instantanément réversible.

CONCLUSION

L'étude des variations rapides des flux entrant et sortant d'électrolytes, chez des flets soumis à des modifications brutales de salinité, a permis de définir certaines caractéristiques des mécanismes responsables des transports d'électrolytes et de leur régulation.

1° Une indépendance des mécanismes de transport du sodium et du chlore a pu être mise en évidence chez le flet EM.

2° Cette indépendance résulte de l'existence dans l'épithélium branchial d'un mécanisme d'échange sodium interne contre sodium externe (Na^+/Na^+) et d'un mécanisme d'échange chlore interne contre chlore externe (Cl^-/Cl^-). Ceci correspond probablement à un couplage des flux entrant et sortant de sodium et à un couplage des flux entrant et sortant de chlore.

3° La réduction instantanée des flux sortants de sodium et de chlore, observée après transfert du poisson d'eau de mer en eau douce, tient à l'existence de ces échanges Na^+/Na^+ et Cl^-/Cl^- : en supprimant l'un de ces 2 ions dans le milieu extérieur, on arrête instantanément le flux sortant de l'ion considéré. Cette réduction correspond à une « régulation instantanée » car elle a pour conséquence de limiter au maximum les variations de la natrémie et de la chlorémie.

4° La variation de la pression osmotique du milieu extérieur reste sans effet sur les flux sortants de sodium et de chlore.

5° Tout le flux sortant de sodium n'est cependant pas le résultat de ces échanges Na^+/Na^+ . Le transfert en ED n'entraîne pas en effet la suppression totale du flux sortant, mais seulement une réduction de 85 à 90 %. La composante du flux sortant, qui est indépendante de $[Na]_{ext}$, pourrait correspondre au flux net d'excrétion qui compense le flux net d'absorption intestinale.

6° Après 30 minutes de séjour en eau douce, on observe une nouvelle réduction du flux sortant de sodium. Cette réduction a été interprétée comme une « régulation différée ».

7° Cette régulation différée modifie la perméabilité au sodium de l'épithélium branchial : en effet, lors du retour en eau de mer le réajustement de f_s est instantanément réversible si la durée de séjour en eau douce a été inférieure à 30 minutes, tandis qu'il n'est que progressif si le séjour en eau douce a été plus long.

8° D'une façon générale, le transfert du milieu d'adaptation dans un milieu hypotonique ou hypertonique s'accompagne de 2 types de régulation qui limitent puis annulent le déséquilibre de la balance minérale : une régulation instantanée RI (due au couplage de f_e et de f_s), complétée par une régulation différée RD (due à une modification de la perméabilité de l'épithélium branchial du sodium). L'importance relative de RI et de RD dépend de la différence des concentrations du sodium dans les milieux d'adaptation et de transfert.

CHAPITRE V

IMPORTANCE RESPECTIVE DU MÉCANISME DE DIFFUSION PAR ÉCHANGE ET DU SYSTÈME ENDOCRINIEN DANS L'OSMORÉGULATION DU FLET

Dans ce chapitre nous rechercherons tout d'abord, parmi les processus invoqués pour expliquer les transferts d'électrolytes à travers les membranes biologiques, celui qui est susceptible de rendre compte des observations faites sur les échanges ioniques chez le flet.

Nous montrerons ensuite que ce mécanisme d'échange possède des capacités régulatrices intéressantes pour un organisme euryhalin et qu'il est responsable de la régulation instantanée.

Enfin, l'origine endocrinienne de la régulation différée sera discutée à la lumière d'expériences montrant l'action de certaines hormones posthypophysaire et surrénalienne sur les échanges de sodium.

I. — MISE EN ÉVIDENCE D'UN MÉCANISME DE DIFFUSION PAR ÉCHANGE DANS LA BRANCHIE DU FLET

Des observations analogues à celles que nous venons de décrire, concernant la réduction du flux sortant de sodium en l'absence de sodium dans le milieu externe, ont été rapportées par divers auteurs. Un « Na free effect » (ou « external sodium effect ») considérable peut être observé chez un crustacé, *Artemia salina*, après transfert d'eau de mer en eau douce (CROGHAN, 1958). Il en est de même pour le muscle de grenouille (KEYNES et SWAN, 1959) et pour les érythrocytes de mouton (TOSTESON et HOFFMAN, 1960) transférés d'une solution de Ringer normale dans une solution de Ringer dépourvue de sodium. Dans ces cellules, le flux sortant de sodium subit une diminution d'environ 50 %. Parallèlement, un « Cl

free effect » a été montré, par DURBIN *et al* (1964), dans l'estomac de grenouille.

« Na free effect » et « Cl free effect » sont considérés par ces auteurs comme résultant de mécanismes d'échanges spécifiques Na^+/Na^+ et Cl^-/Cl^- , du type diffusion par échange.

La diffusion par échange (« exchange diffusion ») a été suggérée par USSING (1947), sur la base de considérations thermodynamiques, pour expliquer une partie des échanges de sodium du muscle de grenouille isolé. Le modèle théorique proposé par USSING est caractérisé par l'existence probable d'une combinaison réversible entre un transporteur membranaire et l'ion sodium. Le complexe sodium-transporteur entre alternativement en contact avec le milieu externe et le milieu cellulaire et, au contact de chacun d'eux, l'ion sodium transporté est échangé contre un ion sodium libre. Ainsi, à chaque ion traversant la membrane dans le sens du flux entrant correspond un ion traversant la membrane dans le sens du flux sortant. Le transport ne nécessite aucune énergie métabolique, tout se passant comme si l'énergie perdue par l'ion migrant le long du gradient électrochimique était récupérée par l'ion migrant contre ce gradient.

Ce type d'échange permet d'expliquer pourquoi, dans certaines études sur les mouvements d'ions à travers les membranes biologiques, alors qu'il y a toute raison de penser que le transport est strictement passif, on ne peut appliquer l'équation classique qui décrit le transport passif des ions. Ceci est notamment le cas pour le transport du chlore à travers le gros intestin isolé de grenouille (COOPERSTEIN et HOGBEN, 1959) et pour l'échange de sodium à travers la muqueuse épithéliale des tubules isolés du rein de *Necturus* (SOLOMON, 1963).

Les observations rapportées ci-dessus, s'interprètent sans difficulté à la lumière du modèle de USSING.

L'existence chez le flet de l'effet « sodium externe » et de l'effet « chlore externe », l'évolution parallèle des flux entrant et sortant de sodium mesurés au cours des variations de salinité du milieu extérieur, suggèrent fortement l'existence de mécanismes de diffusion par échange pour le sodium et pour le chlore dans la branchie du flet.

Ce concept de diffusion par échange est cependant très controversé. KEYNES et SWAN (1959) montrent, sur le muscle, que la suppression du sodium dans le milieu externe entraîne une diminution du flux sortant radioactif (diffusion par échange positive suivant la terminologie de MULLINS), mais que cette réduction n'apparaît pas si la concentration du sodium interne, $[Na]_i$, est supérieure à la valeur normale (la diffusion par échange est nulle). Récemment, KEYNES (1965) a même montré que la diffusion par échange pouvait être inversée (augmentation du flux sortant de sodium en l'absence de sodium externe) si $[Na]_i$ est anormalement élevée. C'est ce que MULLINS a défini comme une diffusion par échange négative. De façon tout à fait comparable, on peut observer dans l'axone géant du calmar une diffusion par échange positive, nulle ou négative suivant la concentration de $[Na]_i$ (KEYNES, 1965).

MULLINS (*in* MULLINS et FRUMENTO, 1963) a proposé un modèle qui peut rendre compte de « l'effet diffusion par échange » (qu'il soit positif, nul ou négatif), sans impliquer l'existence d'un échange Na^+/Na^+ et un couplage des flux entrant et sortant. Ce modèle repose sur l'hypothèse suivante : la pompe responsable du flux sortant de sodium est séparée spatialement de l'intérieur de la fibre musculaire par une « zone de diffusion restreinte » pour les ions sodium. Au cours des transferts Ringer Na - Ringer sans Na et inversement, les variations de la concentration du sodium à l'intérieur de la zone de diffusion restreinte sont plus importantes que les variations de $[Na]_i$.

De plus, d'après les observations faites sur les muscles par KEYNES et SWAN (1959) et par MULLINS et FRUMENTO (1963), la courbe qui traduit l'évolution du flux sortant de sodium en fonction de $[Na]_i$ est une courbe en S. MULLINS décompose cette courbe en 3 régions :

— une « région cubique » correspondant à $[Na]_i$, variant de 3 à 8 mM. Dans cette zone, f_s est proportionnel à $([Na]_i)^3$, comme si le transporteur avait 3 sites;

— une « région linéaire » pour $[Na]_i$, variant de 15 à 25 mM. Dans cette zone, f_s est directement proportionnel à $[Na]_i$;

— une « région saturée » pour $[Na]_i$, supérieure à 35 mM. Dans cette zone, le transporteur est saturé et f_s atteint un taux limite.

Pour MULLINS l'effet diffusion par échange peut s'interpréter de la façon suivante. On admet que la RAS du sodium interne est égale à 1 lorsque le muscle est placé dans du Ringer sans Na. De plus, une analyse mathématique de MULLINS montre que la concentration du sodium

dans la zone de diffusion restreinte ($[Na]_p$) est peu différente de $[Na]_i$ au cours des transferts. On peut donc admettre que dans la « région cubique » f_s est proportionnel à $([Na]_p)^3$ et dans la « région linéaire » f_s est proportionnel à $[Na]_p$.

Appelons le flux sortant de sodium et le flux sortant radioactif en Ringer sans Na respectivement f_s et f_s^* , et f'_s et f'_{s^*} les mêmes flux dans du Ringer Na. On peut écrire

$$f_s = k ([Na]_p)^3, \quad [1]$$

$$f_s^* = k ([Na]_p)^3 \cdot 1, \quad [2]$$

$$f'_s = k ([Na]_p')^3. \quad [3]$$

Dans le Ringer Na, la RAS du sodium sortant du muscle est diluée par le sodium externe non marqué qui a pénétré dans la zone de diffusion restreinte.

$$\text{Posons} \quad [Na]_p' = [Na]_p + \Delta[Na]_p,$$

($\Delta[Na]_p$ représentant la fraction de la concentration totale due à l'entrée de Na externe). La RAS est donc diluée d'un facteur égal à

$$\frac{[Na]_p}{[Na]_p + \Delta[Na]_p} = \frac{[Na]_p}{[Na]_p'}$$

on a donc

$$f_{s'}^* = k ([Na]_p')^3 \cdot [Na]_p/[Na]_p'. \quad [4]$$

La diffusion par échange correspond au rapport $f_s^*/f_{s'}^*$, on a donc

1° Pour la « région cubique » :

$$f_s^*/f_{s'}^* = ([Na]_p)^2/([Na]_p')^2 < 1. \quad [5]$$

La diffusion par échange est donc positive.

2° Pour la « région linéaire » :

$$f_s^*/f_{s'}^* = 1.$$

La diffusion par échange est donc nulle.

3° Pour la « région saturée » :

$$f_s^*/f_{s'}^* = [Na]_p'/[Na]_p > 1.$$

La diffusion par échange est donc négative.

Nous allons comparer les observations faites sur la branchie du flet et celles réalisées sur le muscle à la lumière de ce modèle de MULLINS.

1° On observe un effet « sodium externe » et un effet « chlore externe » indépendants chez le poisson.

2° L'effet « sodium externe » affecte 50 % du flux sortant total dans le muscle, 90 % chez le flet EM.

3° Une variation brusque de $[Na]_{ext}$ entraîne une diminution immédiate ou une augmentation immédiate (moins de 10 secondes) du flux sortant radioactif de sodium chez le poisson. On peut admettre que la zone de diffusion restreinte, si elle existe, correspond chez le poisson à l'épithélium branchial unicellulaire. Il faudrait donc admettre, pour expliquer l'effet diffusion par échange, une variation extrêmement rapide de la concentration

du sodium cellulaire ($[Na]_c$), ce qui n'est peut-être pas impossible.

4° L'importance relative de la composante « diffusion par échange » du flux sortant décroît avec la salinité du milieu d'adaptation : 90 % en EM, 75 % en EM1/2, 45 % en EM1/4, vraisemblablement nul en ED.

Ceci est en opposition avec les observations faites sur le muscle où la diffusion par échange est d'autant plus importante que $[Na]_i$ est plus faible. Or, chez le flet, l'adaptation à des eaux de mer diluées entraîne une diminution (faible, de $[Na]_i$).

5° Chez le flet EM mis en ED, la diffusion par échange correspond à $\frac{f_s \cdot ED}{f_s \cdot EM}$.

Ce rapport est égal à 0,10.

D'après l'équation [5] de MULLINS, on peut écrire

$$\frac{f_s \cdot ED}{f_s \cdot EM} = \frac{([Na]_e)^2}{([Na]_i')^2} = 0,10.$$

Le changement de concentration du sodium contenu dans les cellules branchiales correspond donc à

$$\frac{[Na]_p}{[Na]_i'} = \sqrt{0,10} = 0,315.$$

Le rapport des flux sortants vrais de sodium est donné par le rapport des équations [1] et [3] soit :

$$\frac{f_s \cdot ED}{f_s \cdot EM} = \frac{([Na]_p)^2}{([Na]_i')^2} = 0,0315.$$

Ainsi, le flux sortant vrai en EM devrait être, si l'on adopte le modèle de MULLINS, 30 fois plus grand qu'en ED. La mesure des flux réalisée en ED donne $f_s \cdot ED = 0,315$ mEq/h/100 g (8 expériences), ce qui impliquerait donc un flux sortant en EM de 10 mEq/h/100 g.

De toute évidence, le traitement mathématique de MULLINS ne peut rendre compte des observations faites sur l'effet « sodium externe » chez le flet.

En revanche, on constate que cette valeur du flux sortant en EM (2,6 mEq/h/100 g) correspond bien au flux sortant que l'on attend du flux net en ED (valeur moyenne 0,315 mEq/h/100 g) et du rapport des flux

sortants radioactifs $\frac{f_s \cdot ED}{f_s \cdot EM}$ (valeur moyenne 0,125).

En effet on a $f_s \cdot EM = \frac{0,315}{0,125} = 2,52$ mEq/h/100 g.

On peut considérer que le rapport des flux sortants radioactifs $\frac{f_s \cdot ED}{f_s \cdot EM}$ correspond bien au rapport des flux sortants vrais $\frac{f_s \cdot ED}{f_s \cdot EM}$, comme le prévoit le modèle de USSING.

6° Enfin, avec le modèle de MULLINS il resterait à expliquer l'équivalence de f_e et f_s et la corrélation entre ces 2 flux.

EN RÉSUMÉ, le mécanisme de diffusion par échange défini par USSING, qui est caractérisé par l'existence d'un transporteur membranaire assurant un couplage des flux entrants et sortants, rend compte des

résultats obtenus chez le flet et nous semble devoir être retenu.

Nous allons montrer d'ailleurs, dans les paragraphes suivants, qu'il est possible de préciser les caractéristiques cinétiques du transporteur et d'attribuer une signification biologique au mécanisme de diffusion par échange.

Etude cinétique de la combinaison sodium-transporteur.

Suivant l'hypothèse de USSING, la diffusion par échange serait caractérisée par l'existence d'un transporteur membranaire susceptible de se combiner au sodium. En étudiant les relations existant entre les flux entrant et sortant et la concentration du sodium externe, nous avons cherché à définir les caractéristiques de la combinaison Na-transporteur.

Le mécanisme de diffusion par échange est responsable de la totalité du flux entrant branchial, mais seulement d'une fraction du flux sortant. Le flux sortant résiduel, mesuré en l'absence de sodium dans le milieu externe, est vraisemblablement lié à un mécanisme de transport actif, car les ions sodium sont transportés contre le gradient chimique, mais nous ne connaissons pas le gradient électrique. Pour ne tenir compte que de la composante diffusion par échange du flux sortant (Δf_s) nous avons soustrait de chacun des flux sortants mesurés la valeur moyenne observée au cours du passage rapide du flet en eau douce (cette valeur correspond à l'intensité de la composante « active »). Sur la figure 26 nous avons porté en ordonnées l'intensité des flux entrants (f_e) et sortants (Δf_s), en fonction de la concentration du sodium externe pour des flets adaptés à EM, EM1/2 et EM1/4. Nous n'avons pas reporté les valeurs obtenues avec les flets adaptés à ED puisque les échanges de sodium dans ce milieu ne sont pas liés à un mécanisme de diffusion par échange.

Cette figure appelle quelques commentaires :

1° On constate tout d'abord que les flux de sodium (entrants et sortants) ne varient pas de façon linéaire en fonction de la concentration du sodium externe.

2° Dans 7 cas, Δf_s et f_e ont été mesurés dans les mêmes concentrations de sodium externe (pour les flets adaptés à EM : en EM, EM1/2 et EM1/4; pour les flets adaptés à EM1/2 : en EM, EM1/2, EM1/4 et EM1/6).

La différence ($f_e - \Delta f_s$) en % de f_e est de 0,36 % $\pm 7,58$. Cette différence n'est pas statistiquement

significative. Il est donc possible de supposer que le flux entrant et le flux sortant, qui dépendent tous les deux de $[Na]_{ext}$, sont réellement couplés.

3° Les courbes représentant l'évolution des flux entrants (f_e) et sortants (Δf_s), en fonction de la concentration C du sodium externe, correspondent à des fonctions hyperboliques décrites par une équation de la forme

$$f_e \text{ (ou } \Delta f_s) = f_{max} \cdot \frac{C}{K + C},$$

FIG. 26.

Relation entre la concentration du sodium externe et les flux entrants (O) et sortants (Δ) (composante diffusion par échange) de sodium chez des flets adaptés à EM, EM1/2 et EM1/4.

Les courbes dessinées représentent les courbes calculées à partir de l'équation

$$f = f_{max} \frac{C}{K + C}.$$

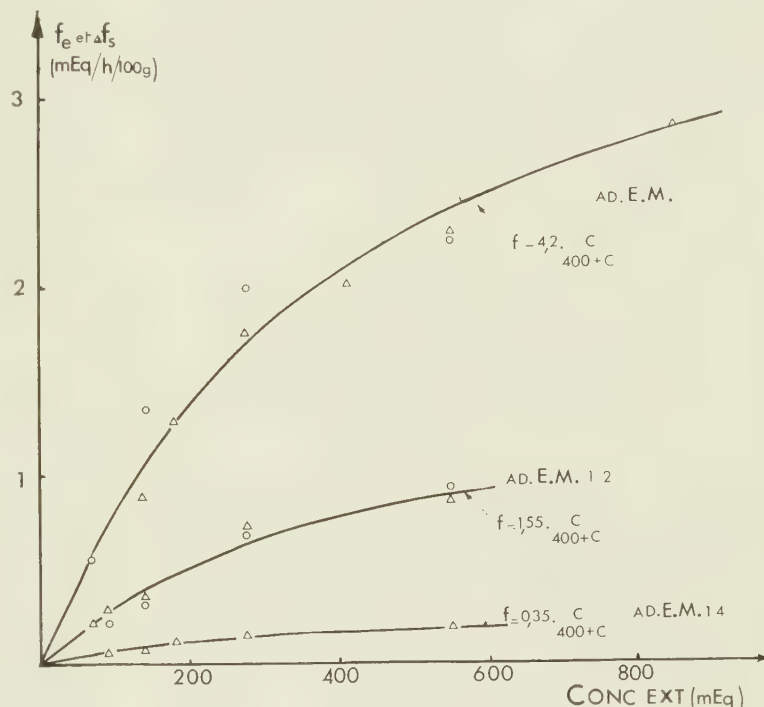
Pour les flets :

EM : $f_{max} = 4,20$; $K = 400$

EM1/2 : $f_{max} = 1,55$; $K = 400$

EM1/4 : $f_{max} = 0,35$; $K = 400$

On constate que l'adaptation à des milieux de salinité variés entraîne une modification de f_{max} sans variation de K . De plus, pour un milieu d'adaptation déterminé, les flux entrants et sortants sont identiques pour une concentration du sodium externe.



où f_{max} est le flux entrant (ou sortant) maximal et K la concentration du sodium externe pour laquelle

$$f_e \text{ (ou } \Delta f_s) = \frac{f_{max}}{2}.$$

Les courbes calculées que nous avons tracées à partir de cette équation rendent compte raisonnablement des valeurs expérimentales mesurées.

Les 3 équations utilisées sont (avec f_{max} exprimé en mEqNa/h/100 g et K en mEqNa/litre)

— pour les flets EM :

$$f_e \text{ (ou } \Delta f_s) = 4,20 \frac{C}{400 + C},$$

— pour les flets EM1/2 :

$$f_e \text{ (ou } \Delta f_s) = 1,55 \frac{C}{400 + C},$$

— pour les flets EM1/4 :

$$f_e = 0,35 \frac{C}{400 + C}.$$

Constatons que dans ces 3 équations les valeurs de K sont identiques mais que les flux f_{max} sont différents (grand en EM, faible en EM1/4).

Ces équations sont analogues à celle de MICHAELIS-MENTEN ($V = V_{max} \frac{C}{K_m + C}$) qui décrit la relation entre

la vitesse d'une réaction enzymatique et la concentration du substrat. Dans l'équation de MICHAELIS, K_m est une constante qui mesure l'affinité d'une enzyme pour son substrat et correspond à la concentration du substrat pour laquelle $V = \frac{V_{max}}{2}$.

Poursuivant cette analogie, nous constatons ainsi que l'affinité du transporteur de diffusion par échange n'est pas modifiée par l'adaptation du poisson à différents milieux. Cette affinité (400 mEq de Na par litre) est faible. Rappelons qu'elle est de 4,3 mEq/l pour le transporteur de la « pompe à sodium » de la peau de grenouille selon KIRSCHNER (1955), et de 38 mEq/l pour le flux sortant de sodium du muscle de grenouille (KEYNES et SWAN, 1959).

En revanche, le flux maximal est modifié par

l'adaptation: ce flux est d'autant plus élevé que le poisson est adapté à un milieu de salinité plus grande.

EN RÉSUMÉ. — Chez le flet, le mécanisme de diffusion par échange pour le sodium est caractérisé par un transporteur membranaire d'affinité faible (400 mEq Na/l) qui, même en eau de mer, est toujours loin d'être saturé. L'adaptation à des eaux de mer diluées ne modifie pas l'affinité du transporteur pour le sodium mais diminue la « vitesse de réaction ».

Nous allons voir dans le paragraphe suivant comment ces modifications des caractéristiques cinétiques du transporteur, en fonction de l'adaptation, peuvent expliquer certains aspects de l'osmorégulation du flet.

II. — SIGNIFICATION BIOLOGIQUE DE LA DIFFUSION PAR ÉCHANGE

SON RÔLE DANS LES RÉGULATIONS INSTANTANÉES ET DIFFÉRÉES

On peut se demander qu'elle est la signification d'un mécanisme de transport qui aboutit par définition à un bilan nul ($f_s = f_e$), et donc sans intérêt biologique apparent.

Constatons tout d'abord qu'en eau de mer, chez tous les Téléostéens étudiés, l'intensité des échanges *branchiaux* d'électrolytes est importante et que le bilan de ces échanges est toujours négatif pour l'organisme ($f_s > f_e$). Seul ce flux net d'excrétion, qui pourtant ne représente que 1/5 ou 1/10 des flux unidirectionnels, a une importance physiologique, puisque lui seul, en compensant le flux net d'absorption intestinal, intervient dans la balance minérale. Tout se passe comme si ce mécanisme d'excrétion (probablement actif) ne pouvait exister sans une certaine perméabilité (passive) de la branchie. La pénétration passive d'électrolytes, qui résulte de cette perméabilité, doit être compensée par l'excrétion d'une quantité équivalente d'électrolytes. Cette excrétion peut être assurée :

— soit par un mécanisme de transport actif, et il y a « dissociation » entre le flux entrant passif et le flux sortant compensateur;

— soit par un mécanisme de diffusion par échange;

il y a alors, grâce au transporteur, une « liaison » entre l'entrée passive des électrolytes et leur excrétion. La perméabilité est « organisée ». Tant que l'animal est en équilibre avec son milieu, cette organisation de la perméabilité reste sans intérêt apparent, si ce n'est peut-être une économie d'énergie. En revanche, l'intérêt de « l'organisation » devient évidente dès que le poisson change de milieu; la diffusion par échange apparaît comme un mécanisme de « feed back » : toute diminution de $[Na]_{ext}$ produit une diminution du flux entrant de sodium et, grâce au transporteur qui lie les deux flux unidirectionnels, une diminution du flux sortant, ce qui limite les variations de la natrémie. Il s'agit donc d'une *autorégulation périphérique instantanée* qui ne nécessite l'intervention d'aucun centre régulateur de type endocrinien. La transmission de l'information ($[Na]_{ext}$) se fait par le transporteur. La diffusion par échange possède donc des capacités régulatrices qui apparaissent intéressantes pour un organisme euryhalin.

Lorsqu'on considère les résultats obtenus sur le flet, un problème subsiste : on ne conçoit pas, étant donné le modèle théorique du mécanisme de diffusion par échange, que ce mécanisme ne soit pas réversible, c'est-à-dire que lors du retour du flet en EM le réajustement du flux sortant de sodium ne soit pas instantané.

On sait que le réajustement est instantané si le séjour du flet en ED n'a pas excédé 30 minutes, mais que, passé ce délai, l'apparition d'une régulation différée RD_1 (fig. 25) entraîne une modification de la perméabilité branchiale au sodium : la réadaptation à l'eau de mer se fait alors progressivement et d'autant plus lentement que le séjour en eau douce ou en eau de mer diluée a été plus long. Si le flet est resté longtemps dans ce milieu, s'il s'y est adapté, le retour en eau de mer se traduit par une régulation instantanée de faible amplitude RI_2 suivie d'une régulation différée RD_2 d'importance considérable.

Les deux régulations différées RD_1 et RD_2 correspondent-elles à un mécanisme identique ? Comment RD_1 intervient-elle sur le mécanisme de diffusion par échange ?

En analysant la figure 26, nous avons été conduit à penser que l'adaptation à une eau de mer diluée ne modifiait pas l'affinité du transporteur, mais entraînait simplement une diminution de la vitesse maximale de réaction.

Pour expliquer cette modification, l'hypothèse la plus simple serait que l'adaptation du flet passant d'eau de mer en eau de mer 1/4, par exemple, corresponde à la disparition partielle du transporteur en EM1/4 : la quantité de transporteur présent dans la branchie serait d'autant plus petite que le flet serait adapté à une eau de mer plus diluée (elle serait quasi nulle en eau douce). Dans ces conditions, la régulation différée RD_1 correspondrait à la disparition progressive du transporteur et la régulation différée observée du passage inverse (RD_2) à sa synthèse. La régulation instantanée RI_2 implique évidemment l'intervention d'un mécanisme de diffusion par échange, mais la diminution de la quantité de transporteur membranaire disponible expliquerait la faible augmentation des flux sortant et entrant.

Cette hypothèse est d'autant plus séduisante qu'elle permettrait de comprendre aisément pourquoi des flets depuis 12 jours en eau douce s'adaptent plus lentement à l'eau de mer que des poissons ayant séjournés simplement 2 jours 1/2 dans ce milieu (fig. 17).

Cependant, il faut noter que la régulation différée RD_1 , du moins après transfert en ED, apparaît 30 minutes après le changement de milieu. Pour expliquer cette observation uniquement en considérant la disparition du transporteur, il faudrait admettre une vitesse de renouvellement très rapide de cette protéine. Dans ces conditions, il est vraisemblable qu'après 2,5 jours en eau douce le transporteur aurait complètement disparu. Il n'y aurait donc plus alors aucune différence dans la cinétique de réadaptation à l'eau de mer entre les poissons en eau douce depuis 2,5 jours ou depuis 12 jours.

Il semble nécessaire, pour tenir compte de ces observations, d'envisager un schéma plus complexe des processus d'adaptation : deux hypothèses nous semblent valables.

PREMIÈRE HYPOTHÈSE. — RD_1 correspondrait à l'intervention d'une régulation d'origine centrale, probablement endocrinienne. Elle agirait sur le flux sortant résiduel mesuré en l'absence de sodium dans le milieu externe, flux lié vraisemblablement à un mécanisme de transport actif. Le temps de latence observé, 30 minutes, est parfaitement compatible avec l'hypothèse d'une telle intervention. La disparition du transporteur s'effectuerait plus lentement et, de ce fait, n'interviendrait pas dans la régulation RD_1 .

RD_2 correspondrait, d'une part, à la synthèse du transporteur (il est très possible que cette synthèse, comme celle d'autres protéines, soit sous contrôle hormonal), et, d'autre part, à la remise en route du mécanisme de transport actif.

DEUXIÈME HYPOTHÈSE. — Le transport « actif » et la diffusion par échange seraient localisés dans des sites identiques de la membrane perméables au sodium. RD_1 correspondrait encore, dans ce cas, à une intervention hormonale. Mais l'hormone viendrait imperméabiliser le site dans son ensemble au lieu d'agir spécifiquement sur le transport « actif ». Il n'y aurait donc pas à proprement parler disparition du transporteur qui serait simplement masqué.

Il nous est actuellement impossible de vérifier ces hypothèses.

III. — INTERVENTION DU SYSTÈME ENDOCRINIEN DANS L'OSMORÉGULATION DU FLET

Dans le cadre du schéma qui vient d'être proposé, nous avons recherché quelle pouvait être l'action d'une hormone posthypophysaire, l'ocytocine, et d'une hormone surrénalienne, l'aldostérone, au cours du passage d'eau douce en eau de mer.

1° ACTION DE L'OCYTOCINE

Cinq flets pesant environ 200 grammes sont mis en eau douce pendant 5 jours. Ils reçoivent une injection de radiosodium 3 heures avant d'être mis en eau de mer. Avant d'effectuer le transfert des poissons en EM, on injecte par voie intramusculaire 600 mU/100 g d'ocytocine à 3 d'entre eux et 0,25 ml de Ringer aux deux témoins. Les cinq flets sont placés dans un aquarium alimenté en eau de mer courante et on suit l'évolution de la radioactivité γ émise par le poisson (courbe de « décharge radioactive »).

La figure 27 illustre l'action de l'ocytocine sur le flux sortant de sodium des flets. On observe que les poissons a, b et c, ayant reçu une injection d'ocytocine, présentent une augmentation du flux sortant de sodium beaucoup plus rapide que les poissons témoins d et e.

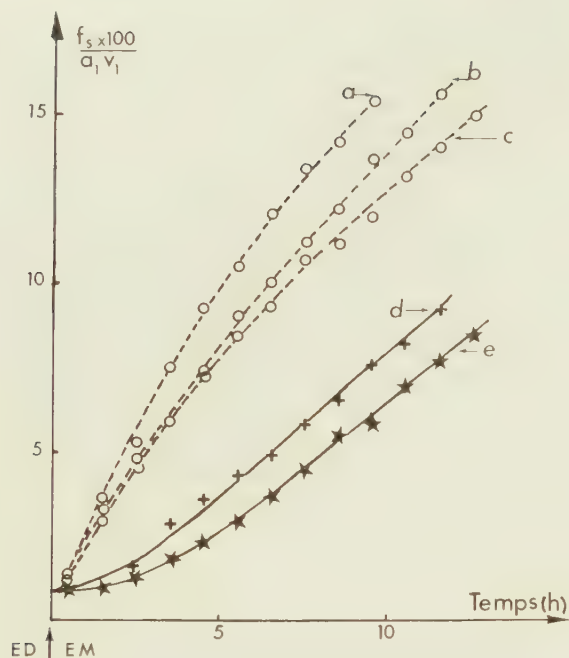


FIG. 27. — Action de l'ocytocine sur l'évolution du flux sortant de sodium chez le flet au cours de la réadaptation à l'eau de mer.

En abscisses : temps écoulé depuis le passage d'eau douce (ED) en eau de mer (EM) en heures.

En ordonnées : fraction de sodium échangeable du poisson renouvelée par heure.

Tous les flets ont le même poids (180 g) et ont séjourné pendant 5 jours en eau douce. On note que les poissons traités par de l'ocytocine (a, b, c) à la dose de 600 mU/100 g présentent un flux de sortie qui augmente plus rapidement que celui des témoins (d et e). L'injection d'ocytocine ou de Ringer a été pratiquée au moment du passage eau douce-eau de mer.

En portant en fonction du temps le quotient R :

$$R = \frac{f_s/a_1 V_1 (\text{animal traité})}{f_s/a_1 V_1 (\text{animal témoin})}$$

pour les poissons a, b, c et e on constate que le quotient atteint un maximum 3 heures environ après le traitement (fig. 28). C'est le temps nécessaire pour que l'action cumulative de l'hormone soit maximale. On observe aussi que l'hormone est déjà active au cours de la demi-heure suivant l'injection.

En stimulant le flux sortant de sodium lors du passage d'eau douce en eau de mer, l'ocytocine favorise la régulation différée RD_2 . Il apparaît ainsi vraisemblable qu'une hormone posthypophysaire est, au moins partiellement, responsable de cette régulation.

Il convient cependant de souligner que l'ocytocine n'est pas une hormone de poisson. Des expériences préliminaires nous ont montré que des extraits d'hypophyses de flets et de *Pollachius* présentaient une action comparable à celle de l'ocytocine. Cette action sur la régulation RD_2 peut s'interpréter dans le cadre de l'hypothèse faite précédemment, comme une intervention sur la composante diffusion par échange du flux sortant (ce qui correspondrait à une action sur la synthèse du transporteur), ou comme une intervention sur la composante active du flux sortant.

Soulignons que les résultats que nous venons de rapporter sont en accord avec les observations histologiques concernant la voie neurosécrétrice hypothalamo-hypophysaire de divers téléostéens (ARVY, FONTAINE et GABE, 1959; SCHIEBLER et HARTMANN, 1963).

En effet le passage brusque d'un milieu hypertonique vers un milieu hypotonique s'accompagne d'une « mise au repos » de l'hypothalamus. Le passage en sens inverse est accompagné de signes histologiques d'augmentation d'activité des noyaux préoptiques et de libération de neurosécrétion à partir

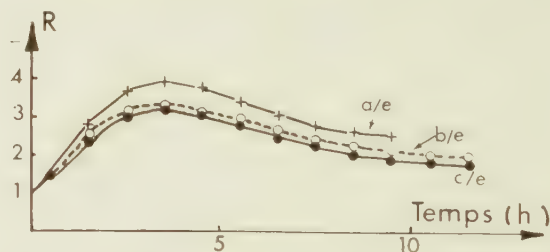


FIG. 28. — Action de l'ocytocine sur l'évolution du flux sortant de sodium chez le flet au cours de la réadaptation à l'eau de mer.

En ordonnées, le quotient R des flux de sortie des poissons traités aux poissons témoins en fonction du temps écoulé depuis le passage en EM.

On représente ici les rapports R des poissons a et e, b et e, c et e de la figure 27. On observe que les courbes passent par un maximum 3 heures environ après traitement et que l'effet de l'hormone peut être observé dès 0,5 heure après l'injection.

du réservoir neurohypophysaire. Ces modifications d'activité de l'axe hypothalamo-neurohypophysaire ont été confirmées chez la truite en cours d'adaptation à l'eau de mer par l'étude de l'évolution du contenu en activité ocytocique, antidiurétique ou vasopressique de l'hypothalamus et de l'hypophyse (CARLSON et HOLMES, 1962; LEDERIS, 1963).

2° ACTION DE L'ALDOSTÉRONE

Cinq flets, dont le poids varie de 230 à 255 grammes, sont soumis au traitement expérimental décrit dans le paragraphe précédent mais le temps de séjour en eau douce est seulement de 7 heures et l'injection d'aldostérone ($5 \mu\text{g}/250 \text{ g}$ de poisson) est faite 6 heures avant le transfert en eau de mer.

La figure 29 illustre l'action de l'aldostérone sur le flux sortant de sodium chez le flet. On observe que les poissons a, b et c, ayant reçu une injection d'aldostérone, ont un flux sortant de sodium qui augmente moins rapidement que celui des témoins.

En portant en fonction du temps le quotient

$$R: \frac{f_s/a_1 V_1 (\text{animal traité})}{f_s/a_1 V_1 (\text{animal témoin})}$$

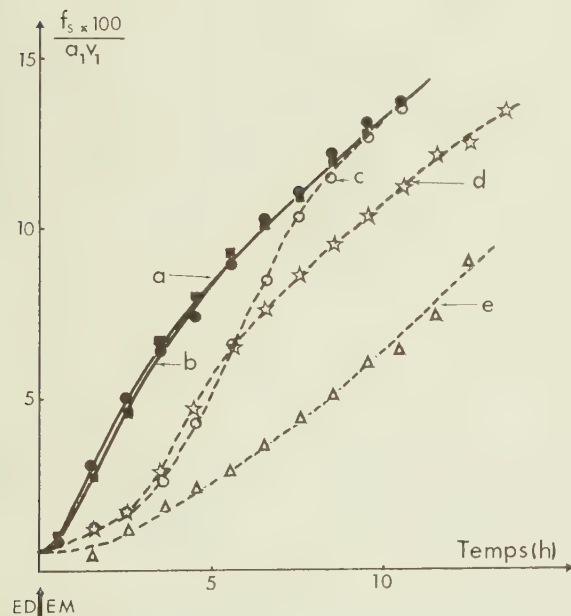


FIG. 29. — Action de l'aldostérone sur l'évolution du flux sortant de sodium chez le flet au cours de la réadaptation à l'eau de mer.

En abscisses : temps écoulé depuis le passage d'eau douce (ED) en eau de mer (EM), en heures.

En ordonnées : fraction de sodium échangeable du poisson renouvelée par heure.

Tous les flets ont approximativement le même poids (230 à 255 g) et ont séjourné pendant 7 heures en eau douce. On note que les poissons traités par de l'aldostérone (c, d, e), à la dose de $2 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ de poisson, présentent un flux de sortie qui augmente plus lentement que celui des témoins (a et b). L'injection d'aldostérone ou de Ringer a été pratiquée 6 heures avant le passage en eau de mer.

on constate que ce quotient atteint un minimum environ 3 heures après le traitement (fig. 30).

Ces expériences montrent clairement que l'aldostérone peut agir sur le métabolisme minéral chez le flet.

En inhibant partiellement et pour quelques heures

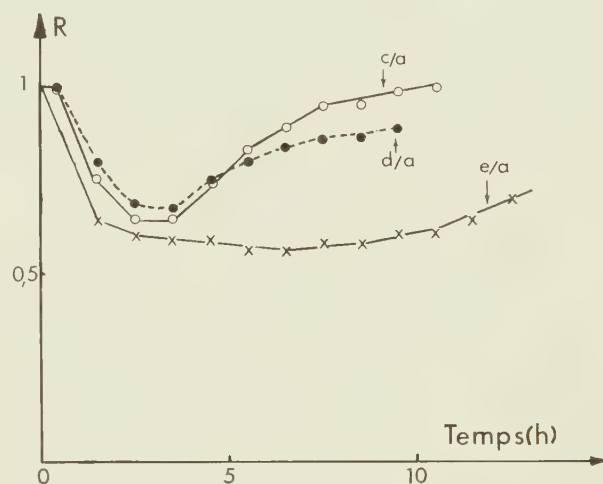


FIG. 30. — Action de l'aldostérone sur l'évolution du flux sortant de sodium chez le flet au cours de la réadaptation à l'eau de mer.

En ordonnées, le quotient R des flux de sortie des poissons traités aux poissons témoins en fonction du temps écoulé depuis le passage en EM.

On représente ici les rapports R des poissons c et a, d et a, e et a de la figure 29. On observe que les courbes passent par un minimum environ 3 heures après passage en EM (9 heures après l'injection).

le flux sortant de sodium lors du passage d'eau douce en eau de mer, elle s'oppose à la régulation différée RD_2 . Son action est donc tout à fait comparable à celle de l'hormone hypothétique responsable de la régulation différée RD_1 . Si, dans des conditions naturelles, l'aldostérone est réellement un des facteurs de l'osmorégulation chez le flet, son intervention doit avoir lieu lors du passage d'eau de mer en eau douce et non lors du passage inverse. En d'autres termes, la diminution de salinité du milieu extérieur devrait provoquer la sécrétion d'aldostérone.

Voyons dans quelle mesure ces résultats sont en accord avec les travaux d'autres auteurs. L'accroissement de salinité du milieu extérieur détermine chez certains Téléostéens une activation du fonctionnement de l'interrénal antérieur qui est considéré comme l'homologue fonctionnel du cortex surrénal des mammifères. Cette activation de la glande a été mise en évidence par des études histologiques

(CHAVIN, 1956; OGURI, 1960, sur *Carassius auratus*; FONTAINE et OLIVEREAU, 1957; OLIVEREAU, 1962, sur *Salmo salar* au stade *smolt*). Cependant, récemment, LELOUP-HATEY (1964 a) a montré que la réaction glandulaire observée n'est pas associée à la lutte de l'organisme contre un déséquilibre osmotique, mais correspond à une stimulation de la sécrétion de gluco-corticoïdes en réponse à l'agression que constitue le changement de milieu : « l'interrénal antérieur des Téléostéens réagit à l'accroissement de la salinité du milieu comme réagit le cortex surrénal des mammifères soumis à une agression quelle que soit la nature de celle-ci » (le froid, le jeûne ou l'exercice musculaire par exemple).

L'interrénal antérieur ne semble donc pas intervenir directement dans le métabolisme minéral au cours des changements de milieu. Mais en dehors de l'interrénal antérieur il existe, chez les poissons holostéens et téléostéens, une formation interrénale (FONTAINE, 1963) dont le rôle physiologique est encore mal précisé : ce sont les corpuscules de Stannius.

Des travaux récents attribuent à ces formations une importance dans la régulation hydrominérale (RASQUIN, 1956; VARGAS et CONCHA, 1957; OLIVEREAU, 1961; LELOUP-HATEY, 1964 b; LELOUP-HATEY, 1964 c; FONTAINE, 1964). Leur ablation entraîne un déséquilibre minéral chez l'anguille d'eau douce et, notamment, une chute de la natrémie (FONTAINE, 1964; LELOUP-HATEY, 1964 b), déséquilibre qui peut être corrigé par l'injection d'aldostérone (LELOUP-HATEY, 1964 c). La présence de corticostéroïde dans le tissu glandulaire (FONTAINE et LELOUP-HATEY, 1959), l'action de la spirolactone, inhibiteur de l'aldostérone, sur leur aspect histologique (OLIVEREAU, 1963) concourent encore à établir un rapprochement entre le rôle physiologique de ces formations et celui de la zone glomérulaire du cortex surrénal.

EN RÉSUMÉ, la sécrétion par les corpuscules de Stannius d'une substance ayant les mêmes propriétés physiologiques que l'aldostérone semble, *a priori*, assez vraisemblable.

Nous avons déduit de nos expériences que chez le flet l'aldostérone serait sécrétée lorsque la salinité du milieu externe diminue. Les données bibliographiques ne nous renseignent guère sur l'évolution des corpuscules de Stannius lorsque les poissons sont soumis à des modifications de salinité.

Signalons cependant que l'immersion du poisson d'eau douce *Astyanax* pendant 10 jours dans une

solution saline de ClNa à 1 % entraîne des modifications de l'aspect histologique des corpuscules de Stannius, que RASQUIN (1956) interprète comme une diminution de l'activité de la glande. Rappelons également que les expériences montrant un déséquilibre minéral évident après ablation des corpuscules de Stannius (FONTAINE, 1964; LELOUP-HATEY, 1964 b) ont été réalisées sur des anguilles d'eau douce. C'est en eau douce, alors que le poisson doit lutter contre une déminéralisation, que l'aldostérone a une action correctrice significative (LELOUP-HATEY, 1964 c). L'injection d'aldostérone diminuerait d'ailleurs le temps nécessaire à l'anguille d'eau de mer pour s'adapter à l'eau douce (BELLAMY, d'après PHILLIPS et BELLAMY, 1963).

La présence ou l'absence d'aldostérone chez les Téléostéens reste un problème non résolu. Les études faites sur l'interrénal antérieur donnent des résultats contradictoires (IDLER *et al*, 1959; PHILLIPS *et al*, 1959; PHILLIPS et MULROW, 1959 a, NANDI et BERN, 1965).

A notre connaissance, seuls PHILLIPS et MULROW (1959 b) ont recherché l'aldostérone dans les corpuscules de Stannius; le fait que les corpuscules du poisson *Pseudopleuronectes americanus* ne sécrètent pas *in vitro* d'aldostérone doit être interprété avec prudence, car l'animal étudié était adapté à l'eau de mer (glande à l'état de repos présumé).

CONCLUSIONS

1° On a montré qu'il existait dans la branchie du flet deux mécanismes de diffusion par échange : un pour le sodium et un pour le chlore. Chez le flet EM, 85 à 90 % du sodium est transporté par ce mécanisme.

2° La diffusion par échange apparaît comme un mécanisme de « feed back » : la transmission de l'information ($[Na]_{ext}$) au récepteur (flux sortant) se fait par le transporteur. La diffusion par échange réalise une autorégulation périphérique instantanée du flux sortant.

3° L'affinité du transporteur membranaire du mécanisme de diffusion par échange pour le sodium est faible : 400 mEq Na/l. L'adaptation à des eaux de mer diluées ne modifie pas l'affinité mais diminue la « vitesse de réaction ». Ceci est interprété comme reflétant une diminution de la quantité de transporteur membranaire disponible (absence quasi to-

tale de transporteur en eau douce, partielle pour des eaux de mer diluées).

4° La régulation différée qui complète la régulation instantanée et que l'on observe toujours quel que soit le sens du transfert (milieu d'adaptation dans un milieu hypo- ou hypertonique) correspond à l'intervention d'une régulation centrale probablement endocrinienne.

Dans le cas d'un transfert du milieu d'adaptation dans un milieu hypotonique, la régulation différée correspondrait simultanément à la diminution de la

quantité de transporteur membranaire disponible et à une intervention hormonale. Les résultats obtenus permettent de penser que l'aldostérone pourrait être un des facteurs de la régulation.

Dans le cas du transfert du milieu d'adaptation dans un milieu hypertonique, la régulation différée correspondrait simultanément à l'augmentation de la quantité de transporteur disponible et à une intervention hormonale. Les résultats obtenus permettent de penser que l'ocytocine pourrait être un des facteurs de la régulation.

CHAPITRE VI

ÉTUDE COMPARÉE D'UN AUTRE EURYHALIN : L'ANGUILLE

De nombreuses recherches concernant l'osmorégulation des poissons ont été réalisées sur l'anguille (voir FONTAINE et KOCH). Une étude comparative sommaire des mécanismes d'échanges ioniques branchiaux chez ce Téléostéen nous a donc semblé souhaitable. Nous avons simplement reproduit un certain nombre d'expériences réalisées sur le flet, permettant d'analyser l'évolution des flux sortants de sodium et de chlore au cours des changements de salinité. Notre but était, notamment, de vérifier s'il existait une autorégulation périphérique instantanée due à un mécanisme de diffusion par échange, complétée par une régulation différée.

Signalons, avant de rapporter les résultats obtenus dans ces conditions, que l'intensité des échanges de sodium et de chlore est respectivement de $1,45 \pm 0,06$ (4 animaux) et $1,59 \pm 0,24$ (5 animaux) mEq/h/100 g pour l'anguille adaptée à l'eau de mer. Ainsi, incapable d'absorber des ions Cl^- après adaptation à l'eau douce (voir chap. III), l'anguille renouvelle environ 32 % de son chlore par heure en eau de mer. Après adaptation à EM1/2 les échanges de sodium sont de 0,31 mEq/h/100 g.

I. — ÉVOLUTION DU FLUX SORTANT DE SODIUM AU COURS DES PASSAGES EM - ED ET ED - EM

A. — Passage eau de mer-eau douce.

Après injection de ^{24}Na dans la cavité intrapéritonéale de l'anguille, on mesure successivement l'apparition du radiosodium dans un volume déterminé

d'eau de mer puis dans le même volume d'eau douce. La figure 31 illustre une expérience de ce type. Comme dans le cas du flet (voir fig. 12 et 13), le flux sortant de sodium diminue immédiatement après passage en eau douce. Dans cette expérience, le flux sortant correspond à 19 % de sa valeur initiale en eau de mer (moyenne de 5 expériences réalisées en mai-juin 1964 : $19,2 \pm 2,0$).

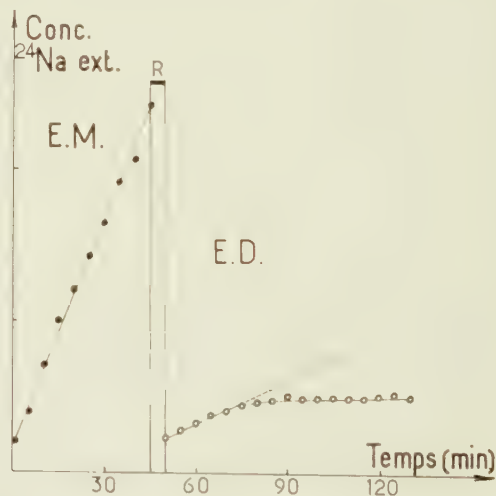


FIG. 31. — Evolution du flux sortant radioactif de sodium chez l'anguille au cours du passage rapide d'eau de mer en eau douce.

Mise en évidence d'une régulation instantanée suivie d'une régulation différée. $r = 19\%$. (Expérience du 21 mai 1964.)

La régulation instantanée du flux sortant est, ici encore, suivie d'une régulation différée après 25 minutes de séjour en eau douce. Cette régulation secondaire a été observée chez toutes les anguilles étudiées dans ces conditions.

B. — Passage eau douce-eau de mer.

Chez le flet, dès que la régulation différée intervient, la réadaptation à l'eau de mer ne peut plus se faire instantanément : elle est d'autant plus lente que le séjour en eau douce a été plus long.

Nous avons recherché si la réadaptation du flux sortant de sodium était immédiate ou progressive lorsque l'anguille était remise en eau de mer après un séjour prolongé en eau douce.

Pour étudier la cinétique du flux sortant de sodium

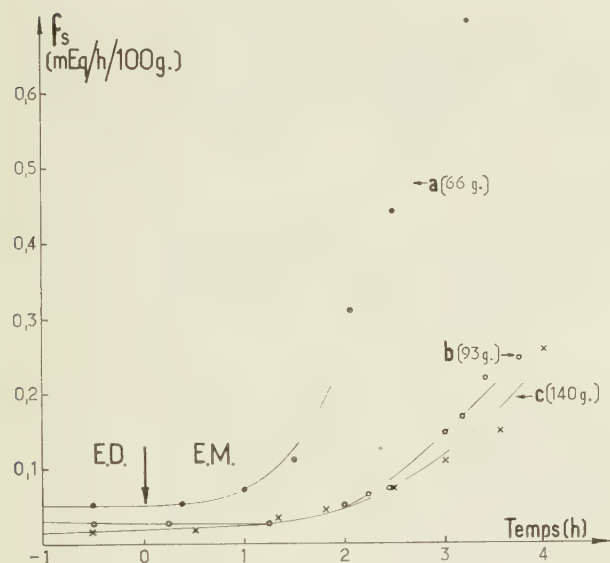


FIG. 32. — Evolution du flux sortant radioactif de sodium chez 3 anguilles adaptées à l'eau douce depuis 15 jours et transférées brusquement en eau de mer. L'adaptation à l'eau de mer est très lente.

En abscisses : temps en heures.

En ordonnées : le flux sortant de sodium en mEq/l/100 g. (Expériences janvier 1965.)

lors du passage d'eau douce en eau de mer, on ne peut suivre l'évolution de la radioactivité du poisson placé dans un aquarium alimenté en eau de mer courante, comme nous l'avons fait pour le flet. Il est en effet inconcevable de maintenir une anguille en géométrie constante devant un scintillateur pendant plusieurs heures. Nous avons donc eu recours à la technique suivante.

Après injection de radiosodium dans la cavité intrapéritonéale de l'anguille, l'apparition du traceur est suivie successivement dans un volume connu

d'eau douce pendant une heure, puis dans le même volume d'eau de mer, renouvelée chaque heure. A la fin de l'expérience l'animal est saigné et la RAS du sang est mesurée. Connaissant la quantité de radio-sodium ΔQ perdue dans chacun des milieux de lavage, on peut calculer la RAS du sang pour chaque période. Le flux de sortie peut ainsi être obtenu en chaque point par la formule $f_s RAS = \Delta Q / \Delta t$. La figure 32 illustre, pour trois anguilles adaptées à l'eau douce depuis 15 jours, l'évolution du flux sortant de sodium en ED puis en EM pendant les 4 heures qui suivent le passage ED - EM. On note, comme chez le flet (voir fig. 17), que l'adaptation à l'eau de mer est très lente dans ces conditions. Ainsi, pour l'anguille C (140 g), le flux sortant est pratiquement identique en ED (0,018 mEq Na/h/100 g) et pendant la première heure en EM. Après 4 heures de séjour dans ce milieu, le flux sortant atteint seulement 0,36 mEq alors que pour l'anguille adaptée à l'eau de mer il est de 1,45 mEq/h/100 g.

Cependant, contrairement aux observations faites sur le flet (MOTAIS et MAETZ, 1964), il n'apparaît pas clairement dans cette expérience que la réadaptation à l'eau de mer soit d'autant plus rapide que le poisson est plus petit.

II. — ÉVOLUTION DU FLUX SORTANT DE SODIUM AU COURS DES PASSAGES EM - ED ISOTONIQUE A L'EAU DE MER

Pour tester l'importance de la pression osmotique sur le comportement du flux sortant de sodium, nous avons soumis des anguilles à des passages EM-ED isotonique à l'eau de mer par addition de mannitol. On constate dans la figure 33 que le flux sortant diminue instantanément après transfert en ED + mannitol. Cependant, contrairement aux observations faites sur le flet, dans nos conditions expérimentales (température 16-18° C, expériences réalisées en mai-juin 1964) les valeurs relatives des flux sortants par rapport à celles obtenues en eau de mer sont plus élevées en ED + mannitol ($38,0 \pm 6,7$, 8 animaux) qu'en ED ($19,2 \pm 2,0$, 5 animaux). La différence est significative $t = 2,7$ $P < 0,02$. L'influence de la pression osmotique sur le comportement du flux sortant de sodium sera discutée lorsque nous étudierons les échanges d'électrolytes chez le serran.

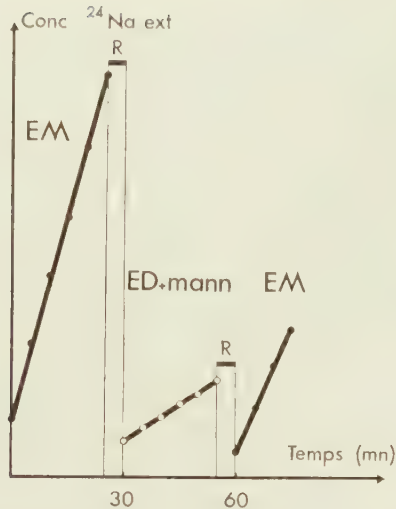


FIG. 33. — Evolution du flux sortant radioactif de sodium chez l'anguille au cours de passages rapides d'eau de mer en eau douce isotonique à l'eau de mer (ED + mannitol).

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

On note une diminution instantanée du flux sortant de sodium après passage en eau douce additionnée de mannitol. (Expérience du 28 mai 1964.)

III. — INFLUENCE DE LA VARIATION DE LA SALINITÉ DU MILIEU EXTERNE SUR L'INTENSITÉ DES FLUX SORTANTS DE SODIUM

Des anguilles sont adaptées pendant 15 jours à trois milieux différents : EM, EM1/2 et ED. Lorsque les poissons sont plongés brusquement dans un milieu autre que le milieu d'adaptation, on mesure les flux sortants de sodium. Pour chaque mesure, 2 à 3 anguilles seulement ont été utilisées (température 15-16° C). Les anguilles adaptées à l'eau de mer ont été plongées dans les milieux suivants : EM1/2, EM1/4, EM1/8, EM1/16, ED).

Les anguilles adaptées à l'eau de mer 1/2 ont été placées en EM1/4, EM1/8, EM1/16 et ED. Enfin, les anguilles d'eau douce ont été mises en EM.

La figure 34 illustre les résultats obtenus. On note que le comportement du flux sortant de sodium chez l'anguille est très comparable à celui du flux sortant de sodium chez le flet (fig. 21). Le peu d'expériences réalisées ne permet cependant pas une analyse plus complète de ce comportement.

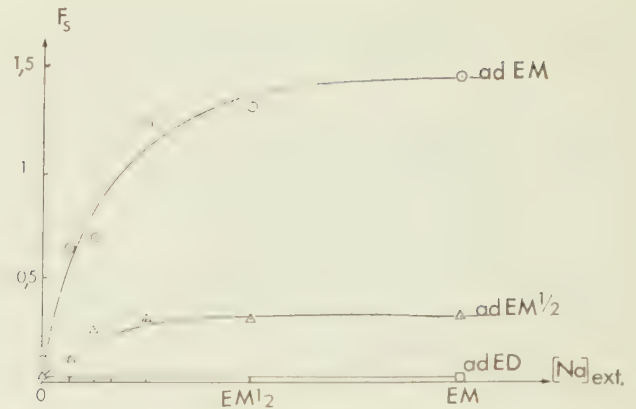


FIG. 34. — Evolution des flux sortants de sodium chez l'anguille adaptée à EM, ED et EM1/2 en fonction de la concentration du sodium externe.

Les concentrations de sodium sont exprimées par rapport à celle de l'eau de mer qui sert de référence.

IV. — COMPORTEMENT DU FLUX SORTANT DE CHLORE AU COURS DU PASSAGE EM - ED

Lorsque l'anguille passe brusquement d'eau de mer en eau douce, le flux sortant de chlore est instantanément diminué et une régulation différée intervient également après 25 à 30 minutes de séjour en ED. La figure 35 illustre une expérience de ce type. Le comportement du flux sortant de chlore est donc

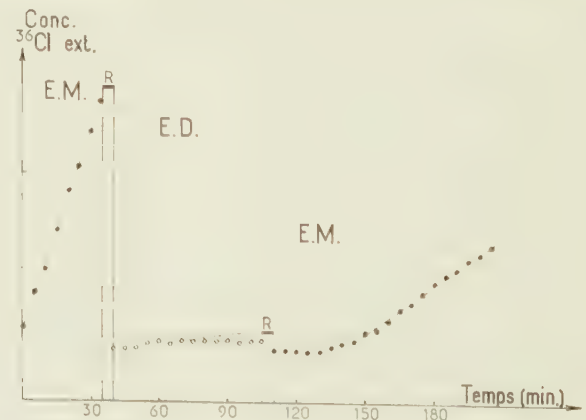


FIG. 35. — Evolution du flux sortant radioactif de chlore chez l'anguille adaptée à EM transférée en eau douce puis de nouveau en eau de mer.

Mise en évidence d'une régulation instantanée suivie d'une régulation différée au cours du transfert en ED. La régulation différée a modifié la perméabilité branchiale au chlore, car le flux sortant n'augmente que progressivement au cours du retour en EM.

identique à celui du flux sortant de sodium. On remarque également que le retour en eau de mer se traduit par une augmentation progressive du flux sortant de chlore. La régulation différée a modifié la perméabilité branchiale au chlore.

CONCLUSION

Compte tenu des résultats obtenus chez le flet, un certain nombre de conclusions peuvent être tirées des observations qui viennent d'être rapportées.

1° Lorsque l'anguille passe d'un milieu de salinité élevée dans un milieu moins concentré en chlorure de sodium, les flux sortants de sodium et de chlore diminuent immédiatement. Cette régulation instantanée peut être attribuée à un couplage des flux entrant et sortant, c'est-à-dire à l'existence d'un

mécanisme de diffusion par échange pour le sodium et pour le chlore. Ceci implique évidemment l'indépendance des transports de ces deux ions.

2° A cette autorégulation instantanée périphérique fait suite une régulation différée qui intervient environ 30 minutes après le changement de milieu et que, par analogie avec nos résultats obtenus sur le flet, nous sommes tenté de considérer comme d'origine endocrinienne.

3° La régulation différée s'oppose, avec encore peut-être plus d'efficacité que chez le flet nous semble-t-il, à une réversibilité de l'adaptation lors du retour en eau de mer.

Une étude approfondie des différents types de régulation (instantanée et différée) serait souhaitable. Elle permettrait de situer dans un cadre général les nombreuses recherches concernant l'action de diverses glandes endocrines sur l'osmorégulation de l'anguille.

CHAPITRE VII

LES ÉCHANGES DE SODIUM CHEZ UN POISSON STÉNOHALIN MARIN, LE SERRAN, SOU MIS A DES VARIATIONS DE SALINITÉ

Le serran n'est pas strictement inféodé à un milieu de salinité déterminé. Pratiquement il peut s'adapter, et il semble que ce soit le cas pour tous les poissons sténohalins marins, à une gamme de salinité variant de l'eau de mer à EM diluée 4 fois, milieu approximativement isosmotique au sang. Les poissons sténohalins possèdent donc certaines possibilités de régulation, bien qu'ils ne puissent survivre au transfert en eau douce.

Nous avons montré (tableau X) qu'après transfert en ED la natrémie et la chlorémie diminuent rapidement chez le serran et que cette chute ne pouvait s'expliquer que par un déséquilibre de la balance minérale.

Dans ce chapitre nous étudierons donc chez le serran, comme nous l'avons fait pour le flet, les modifications des échanges d'électrolytes après variation de la salinité du milieu extérieur.

I. — ÉVOLUTION DU FLUX SORTANT DE SODIUM ET DE CHLORE AU COURS DU TRANSFERT EM - ED

La figure 36 illustre une expérience montrant l'évolution du flux sortant de sodium au cours de changements de milieu successifs EM, ED, EM. On constate, comme pour le flet, une diminution du flux sortant radioactif aussitôt après passage en eau douce, mais cette réduction est beaucoup moins importante que chez le poisson euryhalin. Comme nous l'avons signalé précédemment (voir chap. I), le réajustement du flux sortant apparaît plus ou moins irréversible, puisque après retour en EM le flux est anormalement bas. Tenant compte du chan-

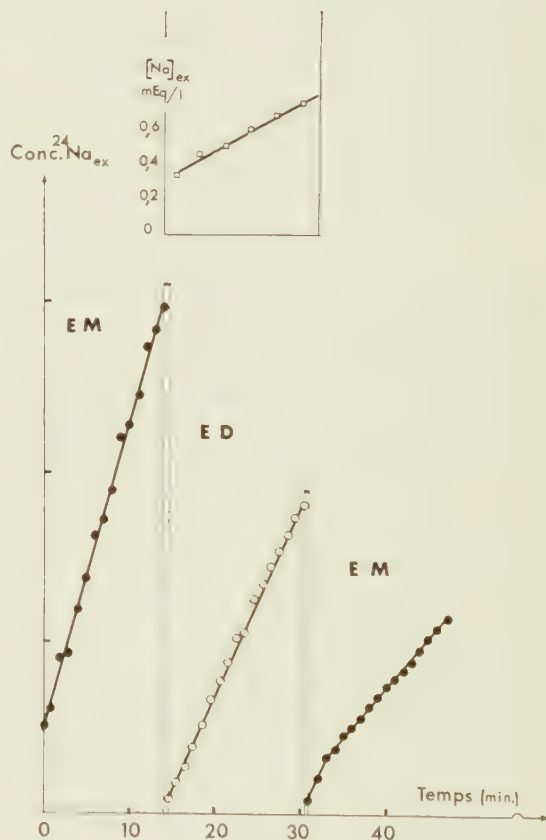


Fig. 36. — Evolution du flux sortant radioactif de sodium chez le serran au cours de changements de milieu successifs EM, ED, EM.

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

On constate une diminution du flux sortant peu importante après transfert en eau douce. Le rajustement du flux après retour en eau de mer est plus ou moins irréversible.

gement de pente observé après transfert EM-EM (voir fig. 5), l'intensité relative du flux sortant en eau douce peut être considérée comme étant égale à 62 % de la valeur du flux sortant en EM.

L'intensité relative moyenne pour 14 expériences identiques est de $58\% \pm 5,3$. Le flux net en eau douce a été mesuré au cours de 3 expériences. Il a été trouvé égal à $1,77 \pm 0,15$ mEq/h/100 g. Cette valeur correspond bien à la valeur attendue du produit du rapport des pentes (0,58 %) et de la valeur

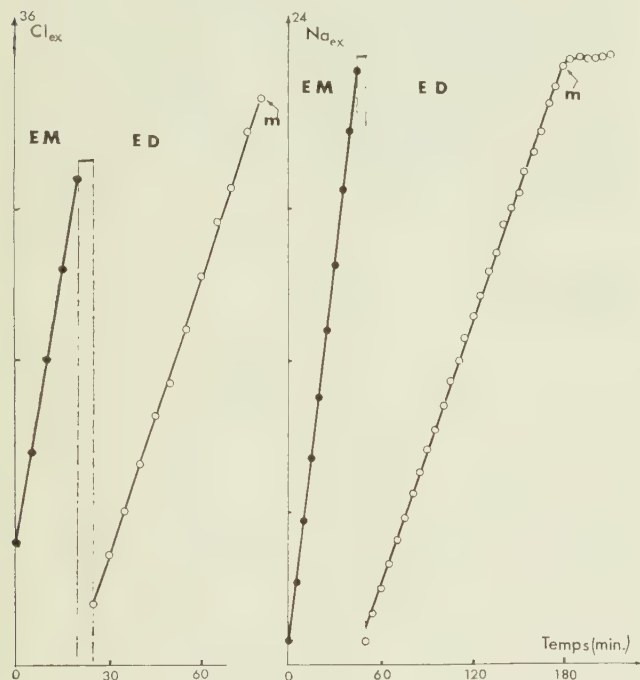


FIG. 37. — Evolution du flux sortant radioactif de chlore (à gauche) et de sodium (à droite) chez le serran au cours du transfert d'eau de mer en eau douce.

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

Le changement de pente reflète une réduction de 47 % du flux sortant de chlore (expérience du 30 avril 1965) et de 40 % du flux sortant de sodium (expérience du 6 mai 1964). *m* indique la mort de l'animal. On constate que la régulation instantanée n'est pas complétée par une régulation différée.

moyenne du flux sortant à l'équilibre (2,65 mEq/h/100 g) : $2,65 \times 0,58 = 1,54$ mEq/h/100 g.

Ainsi se trouve, au moins partiellement, expliquée la déminéralisation très rapide du serran après transfert en ED. La figure 37 illustre l'évolution du flux sortant de ^{36}Cl (à gauche) et de ^{24}Na (à droite) au cours de deux expériences pendant lesquelles le poisson a été maintenu en eau douce jusqu'à la mort.

On constate :

— d'une part, que l'intensité relative du flux sortant de chlore après transfert EM-ED est de 53 %, valeur comparable à la valeur moyenne observée pour le sodium (58 %);

— d'autre part, la réduction instantanée du flux sortant de sodium et de chlore n'est pas complétée, à l'encontre de ce que nous avons observé chez le flet, par une régulation différée (MOTAIS, GARCIA ROMEU et MAETZ, 1965).

Des expériences complémentaires ont été réalisées pour déterminer si la diminution du flux sortant de sodium, observée après transfert en eau douce, est due à la modification de la pression osmotique ou de la concentration ionique du milieu externe. Dans ces expériences, l'évolution du flux sortant a été suivie en EM puis en ED rendue isotonique à l'eau de mer par addition de mannitol.

II. — ÉVOLUTION DU FLUX SORTANT DE SODIUM AU COURS DES PASSAGES EM-ED ISOTONIQUE A L'EAU DE MER

La figure 38 illustre une expérience réalisée en mai. On constate que le transfert EM-ED + mannitol ne modifie pratiquement pas le flux sortant de sodium. Au cours de 13 expériences analogues, l'intensité relative du flux sortant en ED plus mannitol a été trouvée égale à $97\% \pm 8,2$. On peut donc conclure de ces expériences qu'il n'existe aucun mécanisme de diffusion par échange dans la branchie du serran et que l'effet « sodium externe » observé au cours du transfert EM-ED est dû à la variation de la pression osmotique.

L'influence de la pression osmotique sur le flux sortant de sodium a été confirmée dans une série d'expériences complémentaires. Dans ces expériences, des serrans EM ont été transférés dans une gamme d'eaux douces de pression osmotique croissante (eaux douces contenant de 0 à 180 grammes de mannitol par litre). Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 39 où l'intensité relative du flux sortant de sodium, par rapport à celui observé en eau de mer, est reportée en fonction de la pression osmotique externe. On constate que la réduction

relative du flux sortant de sodium est proportionnelle à l'osmolarité du milieu externe. L'effet de la pression osmotique du milieu externe sur les transports d'ions à travers les membranes biologiques a déjà

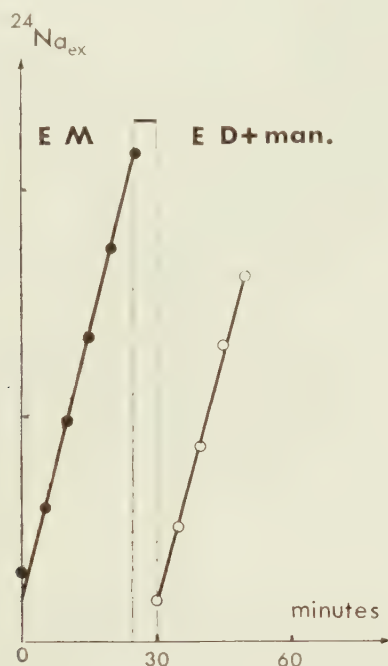


FIG. 38. — Evolution du flux sortant radioactif de sodium chez le serran au cours du transfert d'eau de mer en eau douce isotonique à l'eau de mer (eau douce + mannitol).

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

Le transfert ne modifie pratiquement pas le flux sortant de sodium (réduction de moins de 5 %). (Expérience du 27 mai 1964.)

celle de la peau des amphibiens. On peut douter de l'importance d'un effet « drag » dans une membrane biologique qui est avant tout le siège d'une excrétion de sels et où les pertes d'eau doivent être limitées au maximum (SMITH, 1930-1932).

D'autre part, récemment, USSING et WINDHAGER (1964), LINDLEY et HOSHIKO (1964), BENTLEY (1964) et USSING (1965) observent que l'hyperosmolarité du milieu externe produit sur la peau ou la vessie de grenouille une inhibition du transport actif, et une chute du potentiel bio-électrique de la peau correspondant à une augmentation très importante de la perméabilité passive aux ions. Cet effet s'expliquerait par une modification de la perméabilité des cellules épithéliales en rapport avec leur tonicité, qui favoriserait un passage intercellulaire des solutes. Cet effet « shunt » pourrait expliquer les variations

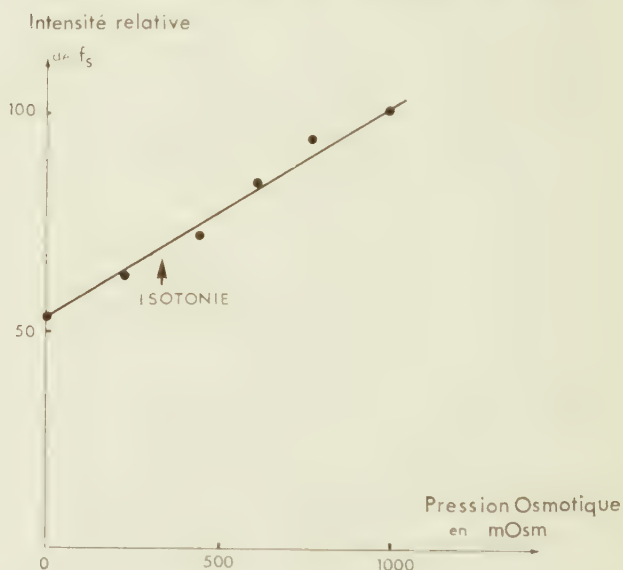


FIG. 39. — Effet de la pression osmotique du milieu extérieur sur le flux sortant de sodium chez le serran.

En abscisses : la pression osmotique du milieu extérieur en mOsm.

En ordonnées : intensité relative du flux sortant de sodium (en % du flux sortant en EM), mesuré aussitôt après transfert.

On constate que la réduction relative du flux sortant de sodium est proportionnelle à l'osmolarité du milieu externe.

été signalé et plusieurs mécanismes ont été invoqués pour expliquer cet effet.

D'une part, le « solvant drag », observé par USSING et ANDERSEN (1955) et ANDERSEN et USSING (1957) sur la peau de grenouille, correspond à un entraînement de solutes (électrolytes et non électrolytes) par le flux osmotique de solvant traversant la membrane probablement au niveau de pores remplis d'eau. La branchie du poisson marin est normalement soumise à une différence de pression osmotique qui correspond bien à un flux net d'eau dirigé dans le même sens que le flux sortant de sodium. Cependant, la perméabilité osmotique de la branchie du poisson marin (voir MAETZ et MOREL, 1965) est plus faible que

de flux sortant observées sur la branchie. Il semble cependant douteux que l'épithélium branchial d'un poisson marin puisse être en état permanent de « contraction » permettant une sortie passive des

ions. L'absence de réversibilité du flux sortant de sodium après retour en EM fait penser que le phénomène peut difficilement être expliqué par une hypothèse aussi simple.

Dans des préparations de muscle de grenouille, KEYNES (1965) a récemment décrit un effet osmotique. L'augmentation du flux sortant est interprétée comme résultant d'une augmentation de $[Na]_i$ provoquée par la déshydratation du muscle plongé dans le milieu hypertonique.

Aucune réponse satisfaisante ne peut être donnée actuellement à l'effet osmotique observé dans la branchie du serran. Cet effet, déjà signalé chez l'anguille, se retrouve chez plusieurs poissons sténohalins et euryhalins (voir chap. VIII). En revanche, il fait défaut chez certains poissons et notamment le flet.

III. — ÉVOLUTION COMPARÉE DES FLUX ENTRANT ET SORTANT DE SODIUM EN FONCTION DE LA CONCENTRATION DU SODIUM EXTERNE

Les résultats obtenus sur l'évolution des flux entrant et sortant de sodium après modifications brusques de la salinité sont consignés dans les tableaux XV et XVI et illustrés dans la figure 40. Seuls, les serrans EM et serrans EM1/4 ont été étudiés.

Pour les serrans EM on constate, lors des changements rapides de milieu, que le flux entrant suit,

TABLEAU XV. — INTENSITÉ DES FLUX SORTANTS DE SODIUM CHEZ DES SERRANS
DANS DEUX MILIEUX D'ADAPTATION (EM-EM1/4)
ET LEUR VARIATION APRÈS TRANSFERT DANS DIVERS MILIEUX

MILIEU D'ORIGINE DU POISSON	MILIEU DANS LEQUEL LE FLUX EST MESURÉ				
	EM	EM1/4	EM1/4 isot. à EM	ED	ED isot. à EM
EM	2,65 [100] (8)	2,40 [91 ± 2,2] (11)	2,62 [99 ± 4,0] (7)	1,55 [58 ± 5,3] (14)	2,57 [97 ± 8,2] (13)
EM1/4	0,41 [73 ± 6,6] (10)	0,56 [100] (7)	0,75 [136 ± 16,7] (6)	0,59 [105 ± 16,5] (4)	

Nombre d'animaux entre parenthèses.
Les flux sortants, exprimés en mEq/h/100 g, sont calculés à partir du flux sortant mesuré dans le milieu d'adaptation. Entre crochets, la variation relative observée après transfert exprimée en % avec l'erreur standard de la moyenne.

TABLEAU XVI. — INTENSITÉ DES FLUX ENTRANTS DE Na CHEZ DES SERRANS
DANS DEUX MILIEUX D'ADAPTATION (EM-EM1/4)
ET LEUR VARIATION APRÈS TRANSFERT DANS DIVERS MILIEUX

MILIEU D'ORIGINE DU POISSON	MILIEU DANS LEQUEL LE FLUX EST MESURÉ				
	EM	EM1/4	EM1/5	EM1/2	ED
EM	265 ± 0,17 (4)	2,1 ± 0,13 (4)	1,55 ± 0,04 (4)	1,45 ± 0,07 (4)	0
EM1/4	1,2 ± 0,14 (7)	0,55 ± 0,05 (6)			0

Le nombre d'animaux est donné entre parenthèses. Les flux sont exprimés en mEq/h/100 g (moyenne ± e. s. de la moyenne).

comme chez le flet, une fonction hyperbolique en fonction de $[Na]_{ext}$. Ceci semble impliquer l'existence d'un transporteur pour le flux entrant. En revanche, à l'encontre de ce que l'on observe chez le flet, le flux sortant n'est pas lié au flux entrant car ce flux est indépendant de $[Na]_{ext}$. Rappelons

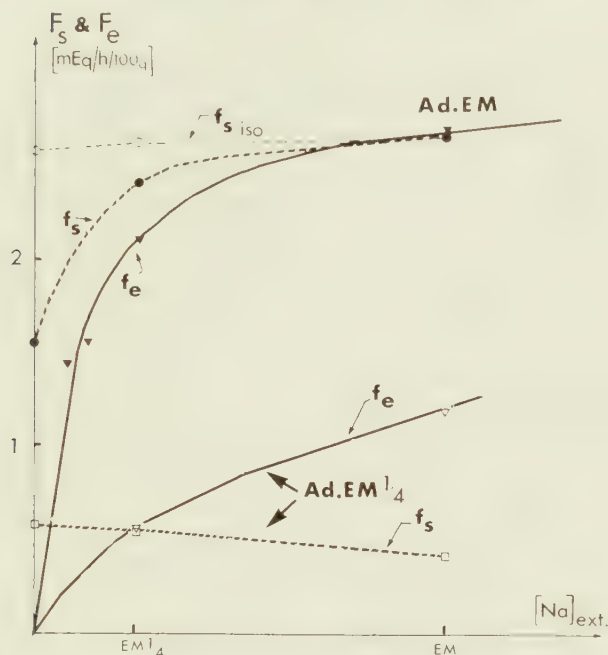


FIG. 40. — Evolution des flux sortants et des flux entrants de sodium chez le serran adapté à l'eau de mer et à l'eau de mer 1/4 en fonction de la concentration du sodium externe.

En abscisses : la concentration du Na externe en mEq/l.

En ordonnées : les flux en mEqNa/h/100 g.

On remarquera la dissociation des flux entrant et sortant.

f_e } mesurés dans des EM diluées ou dans ED non
 f_s } isotoniques à EM.

f_s (iso) : f_s mesuré dans des EM diluées dans ED isotoniques à EM.

cependant que l'abaissement de la pression osmotique produit une diminution significative du flux sortant : en eau de mer, le flux sortant est de 2,65 mEq/h/100 g, en eau douce isotonique à l'eau de mer de 2,57 mEq (différence non significative) et en eau douce de 1,55 mEq.

Pour les serrans EM1/4, on constate aussi une très nette dissociation entre f_e et f_s puisque après transfert en EM on observe une réduction significative de f_s ($t = 6,1$ $p < 0,001$), tandis que f_e augmente. Le rapport f_e/f_s est d'environ 3. Dans ces expériences

de transfert EM1/4-EM, après 30 minutes de séjour en EM on constate d'ailleurs une augmentation de 8 % de $[Na]_i$ ($t = 3,8$) et de $[Cl]_i$ ($t = 2,4$). Il est intéressant de noter cependant que le transfert EM1/4 → EM1/4 isotonique à l'eau de mer produit plutôt une augmentation du flux sortant.

La dissociation des flux unidirectionnels est également très évidente après transfert EM1/4-ED; en effet, dans ces conditions le flux sortant reste le même qu'en EM1/4 (0,59 au lieu de 0,56 mEq/h/100 g), alors que le flux entrant est à peu près nul.

La chute rapide de la natrémie après transfert d'EM ou d'EM1/4 dans des milieux de salinité moindre que EM1/4 s'explique donc par la réduction rapide du flux entrant, alors que le flux sortant reste inchangé (excepté la diminution due à l'effet osmotique).

IV. — EXISTENCE D'UNE RÉGULATION SECONDAIRE LORS DU TRANSFERT EM - EM1/4 ET EM1/4 - EM

Nous avons vu que le serran peut vivre dans EM1/4 et dans des eaux de mer diluées de salinité plus élevée que EM1/4. Une telle possibilité de survie implique une certaine capacité de régulation. L'examen de la figure 40 montre que la régulation est essentiellement une régulation secondaire. Ainsi, par exemple, quand un serran EM est transféré en EM1/4, aussitôt après transfert les flux unidirectionnels diminuent faiblement (la dissociation de ces flux fait d'ailleurs apparaître un flux net négatif de 0,3 mEq/h/100 g).

Après adaptation, on constate ensuite que l'intensité de ces flux a fortement diminué, ce qui suggère l'intervention d'une régulation différée.

On peut penser que, lors du transfert EM-ED, le déséquilibre de la balance minérale est trop rapidement critique pour que la régulation centrale puisse avoir une quelconque efficacité.

CONCLUSION

L'étude de l'évolution des flux sortant et entrant d'électrolytes chez le serran (poisson sténohalin) soumis à des variations de salinité montre que les mécanismes responsables des échanges ne sont pas

identiques à ceux que nous avons décrits pour le flet (poisson euryhalin).

1° Après transfert EM-ED on observe, comme pour le flet, une réduction instantanée du flux sortant de sodium et de chlore. Cette réduction du flux sortant est cependant beaucoup moins importante. En outre, on constate qu'elle résulte de la diminution de la pression osmotique et non de l'absence d'électrolytes dans le milieu externe. Il s'agit donc ici d'un effet « osmotique », et non d'un effet « sodium externe », ce qui exclut l'existence d'un mécanisme de diffusion par échange dans la branchie du serran.

2° L'absence de mécanisme de diffusion par

échange est encore confirmée par la dissociation des flux unidirectionnels dans certaines conditions expérimentales et notamment au cours du transfert EM1/4-EM.

3° Les flux sortant et entrant n'étant pas couplés, le transfert d'eau de mer en EM1/4 ou en ED se traduit par un déséquilibre de la balance minérale. Le flux net négatif est beaucoup plus important en ED qu'en EM1/4.

Dans ce dernier milieu, une régulation secondaire, dont la cinétique n'a pas été étudiée, réduit l'intensité des échanges et permet l'adaptation.

Aucune régulation secondaire n'a pu être mise en évidence après transfert en ED.

CHAPITRE VIII

LES MÉCANISMES DE L'EURYHALINITÉ. ROLE DE LA DIFFUSION PAR ÉCHANGE

Nous avons été amené à souligner à diverses reprises le rôle fondamental de la diffusion par échange, en temps que facteur de régulation de la balance minérale chez un poisson soumis à des changements brusques de milieu.

Si l'on se souvient, en outre, que ce mécanisme gouverne plus de 80 % des échanges de sodium chez les poissons euryhalins que nous avons étudiés, mais qu'il est à peu près inexistant chez le serran, poisson sténohalin, on admettra qu'il y a de fortes présomptions pour considérer la diffusion par échange comme l'un des mécanismes essentiels assurant l'euryhalinité.

Dans ce chapitre, nous appuyant sur les résultats analysés précédemment, nous tenterons de définir un schéma général susceptible de rendre compte des différentes formes d'euryhalinité. Puis à l'aide de « sondages » effectués chez diverses espèces de poissons nous mettrons à l'épreuve ce schéma qui, en tout état de cause, doit être considéré actuellement comme une hypothèse de travail.

I. — SCHÉMA DE L'EURYHALINITÉ CHEZ LES POISSONS TÉLÉOSTÉENS

Tous les organismes aquatiques peuvent supporter une certaine variation de salinité du milieu dans lequel ils vivent, mais les modalités de régulation sont différentes suivant les espèces. Deux types de réponse extrêmes peuvent être définis (PROSSER, 1962).

1° Certains animaux sont osmotiquement dépendants du milieu extérieur. Leurs cellules, baignant dans un milieu intérieur de concentration ionique

variable, sont capables de résister à ces fluctuations, au moins pour une variation limitée de la salinité externe. Ce sont des *organismes poïkilosmotiques* ou *osmoconformes*.

2° Les animaux dont les cellules des tissus et des organes sont plus exigeantes en ce qui concerne la stabilité osmotique du milieu intérieur, ont développé des mécanismes osmorégulateurs efficaces au niveau des membranes séparant l'organisme du milieu externe. Ces organismes sont des *osmorégulateurs* ou des *animaux homéosmotiques*.

Les Téléostéens euryhalins se rencontrent aussi bien parmi les Osmoconformes que parmi les Osmorégulateurs. L'euryhalinité ne semble donc pas liée à un type de régulation mais bien plutôt à son degré de développement.

Nous allons rechercher les mécanismes qui peuvent à la fois rendre compte de ces deux formes de régulation et de leur plus ou moins grande efficacité.

Prenons comme exemple de variation de salinité le transfert d'un poisson d'eau de mer en eau douce, et comme électrolyte de référence le sodium. Après changement de milieu, le flux entrant de sodium devient immédiatement quasi nul. Le flux sortant, qui est fonction de la concentration du sodium plasmatique, n'est pas modifié. En l'absence d'une régulation, ce flux (de l'ordre de 2 mEq Na/h pour un poisson contenant environ 6 mEq Na) va rapidement provoquer un déséquilibre de la balance minérale et entraîner la mort du poisson. La différence de réglage osmotique observée entre Osmorégulateur et Osmoconforme s'expliquera par la *rapidité* d'intervention d'un système régulateur tendant à annuler le flux sortant : régulation instantanée pour les Osmorégulateurs, régulation différée pour les Osmo-

conformes capables de supporter une déminéralisation partielle de leur milieu intérieur. Quant à la distinction entre euryhalin et sténohalin elle résidera dans l'efficacité de la régulation.

Les observations faites au cours de ce travail permettent de dresser la liste des mécanismes qui diminuent le flux sortant à plus ou moins brève échéance après transfert en ED :

— la régulation instantanée peut être due à un effet « osmotique » (voir serran et, à un moindre degré, l'anguille), mais surtout à l'existence d'un servo-mécanisme périphérique correspondant à un couplage des flux entrant et sortant d'électrolyte (mécanisme de diffusion par échange mis en évidence chez le flet et l'anguille).

— la modification différée et progressive du flux sortant a été attribuée à une régulation d'origine centrale, vraisemblablement endocrinienne.

Ainsi se trouve défini le système de régulation caractéristique de chacun des deux types de réponse osmotique :

— régulation centrale différée et progressive pour les Osmoconformes (la régulation instantanée étant inexistante ou peu importante);

— autorégulation périphérique instantanée pour les Osmorégulateurs.

Pour distinguer entre euryhalin et sténohalin, il nous faut maintenant envisager pour chaque type de régulation divers degrés d'efficacité.

Chez les Osmoconformes, deux facteurs déterminent l'efficacité du réglage osmotique :

— l'importance de la régulation centrale, caractérisée par un délai d'apparition et par son amplitude;

— les possibilités de résistance des cellules aux variations du milieu intérieur.

L'euryhalinité des Osmoconformes résultera donc d'une grande résistance cellulaire et de l'existence d'une régulation centrale importante. L'intervention tardive d'une régulation centrale, même de faible amplitude, peut être suffisante pour permettre au poisson de supporter des variations de salinité limitées. Mais le transfert dans un milieu hypotonique entraîne rapidement un déséquilibre critique de la balance minérale et la mort du poisson si la régulation tarde à se manifester. Ainsi, chez le serran, exemple d'Osmoconforme sténohalin (faible régulation instantanée, variation importante de la

concentration des électrolytes plasmatiques), la régulation centrale semble faire totalement défaut après passage en eau douce alors qu'elle intervient en eau de mer 1/4 (voir chap. VII).

Envisageons maintenant le cas des Osmorégulateurs. Chez l'Osmorégulateur parfait, s'il existait, tous les échanges d'électrolytes s'effectueraient par l'intermédiaire de mécanismes de diffusion par échange. Disons tout de suite que ce cas n'est pas vraisemblable, car la diffusion par échange correspond à un échange d'ions sans flux net. Or, depuis SMITH, on sait que les poissons marins boivent de l'eau de mer et que le flux net (d'absorption) intestinal est compensé par un flux net (d'excrétion) branchial. La diffusion par échange ne peut donc contrôler qu'une partie des échanges d'électrolytes. Après transfert en eau douce, la régulation instantanée n'affecte ainsi que la fraction « diffusion par échange » du flux sortant. La fraction résiduelle du flux sortant ne sera modifiée qu'après intervention d'une régulation secondaire d'origine centrale.

Ainsi deux facteurs déterminent l'efficacité du réglage osmotique chez les Osmorégulateurs :

— la diffusion par échange à laquelle s'ajoute, éventuellement, l'effet « osmotique »;

— la régulation centrale différée.

L'euryhalinité des Osmorégulateurs résultera de l'existence d'une importante composante « diffusion par échange » du flux sortant et d'une régulation centrale différée efficace. Le flet est un exemple d'Osmorégulateur euryhalin (la composante « diffusion par échange » du flux sortant représente 85 % du flux sortant total; la régulation secondaire intervient 30 minutes après passage en eau douce).

L'absence de régulation centrale, quelle que soit l'importance de la régulation instantanée, entraîne nécessairement la mort du poisson en eau douce, puisque dans ces conditions le flux net d'excrétion branchiale subsiste.

Les différentes subdivisions que nous venons de proposer, et qui figurent schématiquement dans le tableau XVII, sont évidemment assez arbitraires puisqu'elles représentent des « dosages » en proportions variables de plusieurs mécanismes fondamentaux.

Une constatation importante ressort de l'examen de ce tableau : pour les Osmorégulateurs comme pour les Osmoconformes, l'euryhalinité ne peut exister si la régulation centrale fait défaut en eau douce.

Notons enfin que les poissons que nous qualifions d'euryhalins ne peuvent être considérés comme tel que si, en outre, ils possèdent ou acquièrent les

TABLEAU XVII. — SCHÉMA DES DIVERS MÉCANISMES ASSURANT L'EURYHALINITÉ DES TÉLÉOSTÉENS

		RÉSISTANCE CELLULAIRE	
		IMPORTANTE	FAIBLE
Régulation centrale.	Insuffisante ou nulle.	Sténohalin (rascasse).	Sténohalin (serran).
	Efficace.	Euryhalin (flet, anguille).	Sténohalin.
Diffusion par échange importante : <i>osmorégulateur.</i>		Diffusion par échange peu importante ou inexistante : <i>osmoconforme.</i>	

mécanismes capables de réabsorber certains ions à partir d'un milieu externe dilué (mécanisme d'échange $\text{Na}^+/\text{Na}_4^+$ par exemple). Nous ignorons en effet si ces mécanismes existent en permanence dans la branchie des poissons euryhalins en eau de mer, ou s'ils disparaissent après adaptation dans ce milieu.

II. — VALIDITÉ DE CE SCHÉMA

Pour éprouver la validité de ce schéma, nous avons mesuré chez 10 Téléostéens (4 euryhalins et 6 sténohalins) l'intensité relative du flux sortant de sodium après transfert en ED isotonique à l'eau de mer (colonne A du tableau XVIII) et après transfert en ED (colonne B). A partir de ces résultats expérimentaux, l'importance de la régulation instantanée a été calculée (RI est la réduction du flux sortant en ED, soit 100-B). Ces valeurs ont été portées dans la colonne C. Puis nous avons voulu préciser l'importance respective de la diffusion par échange et de l'effet osmotique dans la régulation instantanée. Dans la colonne D, nous avons chiffré l'importance de la diffusion par échange (en pour-cent de la régulation instantanée).

Enfin, nous avons recherché l'existence éventuelle d'une régulation différée pendant la première heure suivant le transfert en ED. Dans la dernière colonne, les résultats positifs sont signalés par une croix et les résultats négatifs par un cercle ouvert.

Les expériences ont été réalisées en avril-mai, à la température de 17-19° C.

Ces résultats appellent quelques commentaires.

1° Il apparaît tout d'abord clairement que la régulation centrale, qui est la règle chez les poissons euryhalins, n'existe pas chez les sténohalins. Rappelons que ceci ne signifie pas que les sténohalins soient dépourvus de toute possibilité de régulation. Au contraire il est vraisemblable, et nous l'avons montré pour le serran, que la plupart d'entre eux sont capables de vivre dans des eaux de mer très diluées (EM1/4 par exemple) et de modifier l'intensité de leurs échanges d'électrolytes. Ceci implique l'existence d'une régulation d'origine centrale, mais son intervention est vraisemblablement très lente (nous n'avons pas étudié la cinétique de la régulation du serran).

2° On remarquera que, chez les poissons euryhalins, la composante diffusion par échange du flux sortant rend pratiquement compte de la totalité de la régulation instantanée. L'effet osmotique n'intervient, pour une faible part, que chez l'anguille et le mulot. Au contraire, chez les espèces sténohalines, la régulation instantanée résulte essentiellement de l'existence d'un effet osmotique. Seule la rascasse fait exception.

3° La régulation instantanée est plus importante chez les poissons euryhalins [voir le flet (fig. 12), l'anguille (fig. 31)] que chez les sténohalins [voir le serran (fig. 36), l'uranoscope (fig. 41)]. Cependant, on observe des exceptions : faible régulation instan-

TABLEAU XVIII. — IMPORTANCE DE LA RÉGULATION INSTANTANÉE ET DE LA RÉGULATION DIFFÉRÉE OBSERVÉE CHEZ DIFFÉRENTS TÉLÉOSTÉENS APRÈS TRANSFERT EM-ED.

POISSONS	INTENSITÉ RELATIVE DU FLUX SORTANT DE SODIUM		IMPORTANCE DE LA RÉGULATION INSTANTANÉE (en % du f_s total)	IMPORTANCE DE LA DIFFUSION PAR ÉCHANGE DANS R. I. (en % de R. I.)	RÉGULATION DIFFÉRÉE
	en ED + mann.	en ED			
	A	B	C	D	
<i>Uranoscopus</i>	95,3 $\pm$ 4,3 ** (5)	52,1 $\pm$ 7,6 (9)	48	0	0
<i>Serranus</i>	97,0 $\pm$ 8,2 (13)	58,0 $\pm$ 5,3 (14)	42	0	0
<i>Gobius cruentatus</i>	72,8 $\pm$ 8,3 (5)	31,8 $\pm$ 7,9 (6)	68	40	0
<i>Sargus</i>	47,5 $\pm$ 2,2 (6)	37,3 $\pm$ 6,6 (6)	63	84	0
<i>Chromis</i>	52,3 $\pm$ 5,9 (7)	25,9 $\pm$ 3,9 (6)	74	64	0
<i>Scorpaena</i>	33,9 $\pm$ 3,4 (5)	29,9 $\pm$ 5,2 (9)	70	100	0
<i>Anguilla</i> *	38,0 $\pm$ 6,7 (8)	19,2 $\pm$ 1,9 (5)	81	77	+
<i>Platichthys flesus</i> *	16,4 $\pm$ 2,2 (5)	15,9 $\pm$ 2,0 (6)	84	100	+
<i>Mugil</i> *	38,8 $\pm$ 11,8 (5)	12,9 $\pm$ 0,7 (7)	87	70	+
<i>Fundulus</i> *	60,0 $\pm$ 10,8 (8)	68,8 $\pm$ 6,0 (11)	31	100	+

Entre parenthèses, le nombre d'animaux.
 * Poissons euryhalins.
 ** Moyenne $\pm$ e. s. de la moyenne.

tanée chez un euryhalin, *Fundulus* (fig. 43), forte régulation instantanée chez la rascasse (fig. 42) et *Chromis*.

Ainsi, à l'intérieur de chacun des deux groupes de poissons, poissons euryhalins et poissons sténohalins, une distinction apparaît entre les espèces possédant ou ne possédant pas une régulation instantanée importante.

Parmi les sténohalins, certaines espèces, comme le serran ou l'uranoscope, peuvent être considérées comme des *Osmoconformes sténohalins* (faible régulation instantanée, absence de régulation secondaire). Il faut noter que le temps de survie en eau douce est également fonction de l'intensité des échanges d'électrolytes en eau de mer, car pour une même intensité relative du flux sortant après transfert, la déminéralisation du poisson est d'autant plus rapide que les échanges étaient plus intenses en eau de mer. Ainsi la résistance à l'eau douce de l'uranoscope (6 à 12 heures) est-elle plus grande que celle du serran (1 à 3 heures) : fraction renouvelée par

heure $\lambda = 25\%$ pour l'uranoscope, 45 % pour le serran.

La rascasse nous semble correspondre à la définition de l'*Osmorégulateur sténohalin*. Etant donné l'importance de la régulation instantanée chez ce poisson, le transfert en eau douce n'entraîne qu'une diminution lente de la natrémie et l'on peut donc prévoir une bonne résistance de la rascasse au changement de milieu. DUVAL (1925) signale en effet : « En général, les Téléostéens marins succombent en peu de temps, en quelques heures au maximum, quand on les place dans l'eau douce. Dès le début de ce travail nous avons remarqué la grande résistance des rascasses vis-à-vis de l'eau douce. Ainsi l'une d'elles était très vivante après un séjour de 18 heures dans ce milieu. Une autre n'a succombé [...] qu'au bout de 60 heures bien que le passage de l'eau de mer à l'eau douce fut réalisé brusquement. »

Chez les poissons euryhalins, la régulation instantanée est généralement importante. Le mécanisme de diffusion par échange est responsable de plus de

60 % des échanges de sodium chez le mulot et l'anguille et de 85 % chez le flet. Le flet correspond à la définition de l'*Osmoréulateur euryhalin* puisque la concentration des électrolytes plasmatiques n'est pra-

ligner l'efficacité remarquable de la régulation différée chez ce poisson.

L'étude de *Fundulus* est particulièrement intéressante. La régulation instantanée est peu importante en moyenne (35 %), bien que très variable d'un individu à l'autre (nulle parfois, elle peut affecter 50 % du flux sortant total). Mais une régulation différée apparaît après environ 20 à 30 minutes de séjour en eau douce (fig. 43). Le flux net mesuré en eau douce montre en effet que, pendant la première demi-heure après transfert, *Fundulus* perd $1,69 \pm 0,235$ mEq/h/100 g (5 animaux), perte qui correspond à environ 70 % du flux sortant de sodium en eau de mer. Le comportement du flux sortant pendant cette période est donc analogue à celui observé chez le serran. Mais pendant la deuxième demi-heure les pertes de sodium sont fortement réduites puisque le flux net est alors de $0,59 \pm 0,125$ mEq/h/100 g

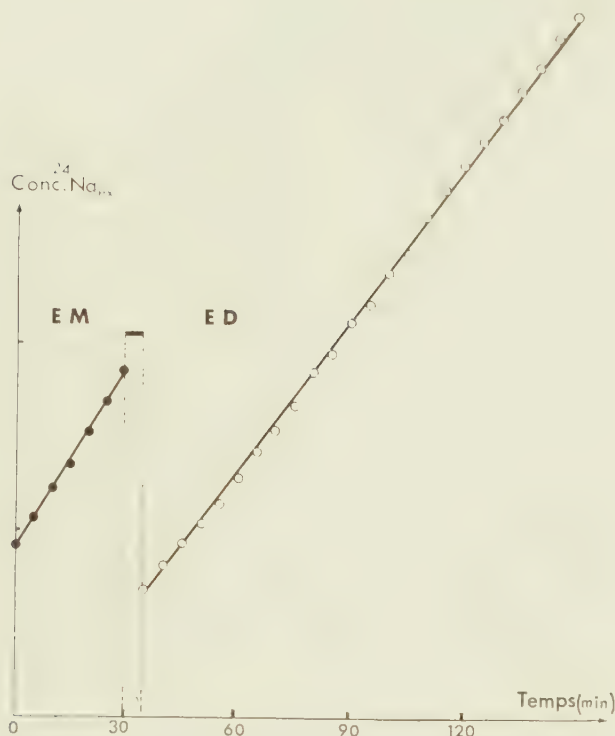


FIG. 41. — Intensité relative du flux sortant après transfert EM-ED chez *Uranoscopus*, poisson sténohalin.

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

On constate l'existence d'une faible régulation instantanée ($r = 0,81$). Il n'apparaît aucune régulation secondaire. (Expérience du 10 juin 1964.)

tiquement pas modifiée après 3 heures de séjour en eau douce (tableau IX). Notons d'ailleurs que, malgré cette stabilité du milieu intérieur, la résistance cellulaire semble importante chez le flet (HENSCHEL, 1936; LANGE et FUGELLI, 1965). Nous n'avons pas suivi les modifications de la teneur des électrolytes plasmatiques après transfert en eau douce chez le mulot et l'anguille. Cependant, PORTIER et DUVAL (1922) soulignent la remarquable stabilité de la pression osmotique chez l'anguille soumise à des variations de salinité externe. Il est donc vraisemblable que l'anguille puisse également être considérée comme un osmoréulateur euryhalin. Nous avons d'ailleurs eu l'occasion, dans le chapitre VI, de sou-

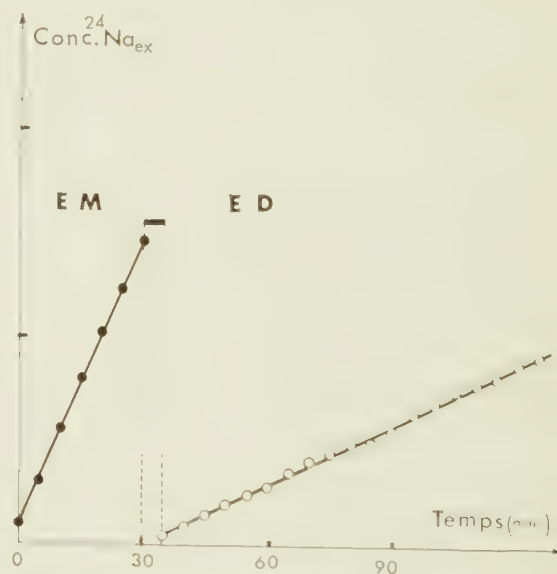


FIG. 42. — Intensité relative du flux sortant après transfert EM-ED chez la rascasse, *Scorpæna*, poisson sténohalin.

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

On constate l'existence d'une forte régulation instantanée ($r = 0,23$). Aucune régulation secondaire n'apparaît. (Expérience 10 juin 1964.)

(5 animaux). Malgré l'efficacité de cette régulation secondaire, le changement de milieu entraîne une modification importante de la natrémie et de la chlorémie ainsi que le montrent les résultats suivants. Dans un premier groupe de 6 animaux, les

3 témoins ont une natrémie élevée : $193,4 \pm 1,8$ mEq Na/l. La concentration du chlore plasmatique est de $157,7 \pm 1,4$ mEq/l. Quatre heures après transfert en eau douce les concentrations plasmatiques observées chez 3 animaux sont de $155,6 \pm 3,7$ mEq Na/l et de $127,3 \pm 1,5$ mEq Cl/l. La diminution de 20 % de la concentration des électrolytes est hautement signifi-

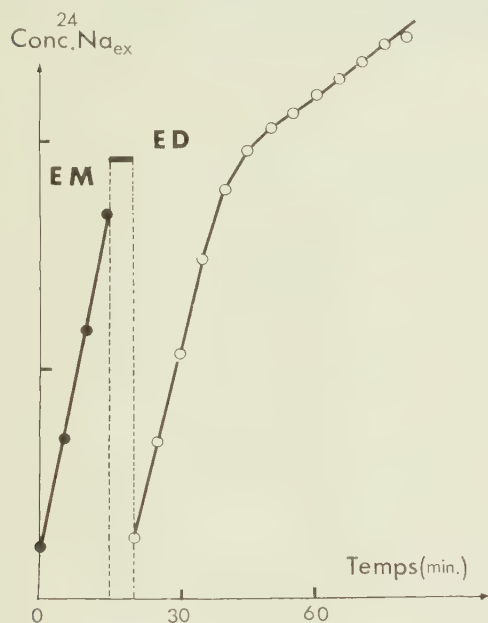


FIG. 43. — Intensité relative du flux sortant après transfert EM-ED chez *Fundulus*, poisson euryhalin.

En abscisses : temps en minutes.

En ordonnées : radioactivité du milieu externe mesurée en unités arbitraires.

On constate l'existence d'une faible régulation instantanée ($r = 0,85$) complétée par une régulation secondaire.

cative ($t = 7,05$, $p < 0,001$ pour Na et $t = 6,25$, $p < 0,001$ pour Cl). Dans un second groupe constitué de 13 poissons, le taux de chlore plasmatique des 8 témoins est élevé : $173,0 \pm 6,3$ mEq/l. La concentration de sodium est de $156,1 \pm 3,55$. Après 3 heures en eau douce, les mesures réalisées sur 5 poissons montrent une réduction de 12 % pour Na ($t = 3,37$, $p < 0,01$) et de 18 % pour Cl ($t = 3,25$, $p < 0,01$).

Récemment, STANLEY et FLEMING (1964) ont montré également que le transfert en eau de mer de *Fundulus kansae* adapté à l'eau douce se traduit, après 3 jours en eau de mer, par une augmentation de 40 % de la teneur en sodium plasmatique et de 33 % de la pression osmotique du sang. Il faut noter que l'amplitude des variations de la natrémie et de la

chlorémie, observées par STANLEY et FLEMING, est supérieure à celle constatée chez le serran (28 %) au moment de la mort. Or, chez ce dernier poisson, le sang était hémolysé et l'hématocrite élevé. Ceci indique que la résistance cellulaire chez *Fundulus* est grande. BURDEN (1956) a d'ailleurs signalé, chez des *Fundulus* hypophysectomisés mis en eau douce, une chute de 60 % de la chlorémie sans formation d'œdème. *Fundulus* apparaît donc comme un *Osmo-conforme euryhalin*.

Rappelons que ce poisson est un Cyprinodonte. On sait que toutes les espèces de cette famille résistent remarquablement au transfert dans des milieux de salinité variés même si leur habitat naturel est l'eau douce. Ainsi *Lebistes reticulatus*, considéré comme un sténohalin d'eau douce, peut s'adapter à l'eau de mer à condition que le changement de milieu soit progressif et lent (36 heures minimum) (MOHSEN et EMERIT, 1961). De même, nous avons transféré brusquement en EM1/2 des Cyprinodontes d'eau douce, *Gambusia affinis*, sans observer aucune mortalité. Il est vraisemblable que chez ces poissons l'adaptation à l'eau de mer est également possible sous réserve de modifier le milieu progressivement. On peut se demander si cette euryhalinité commune à tous les Cyprinodontes ne tient pas tout simplement à l'existence, chez ces poissons, de cellules capables de résister remarquablement aux variations du milieu intérieur : cette résistance cellulaire leur laisserait le temps de développer une régulation centrale qui semble exister potentiellement chez tous les poissons, même les sténohalins comme le serran. Cette hypothèse expliquerait que, pour nombre d'entre eux, un passage brusque d'une salinité à une autre, fortement différente en valeur absolue, soit moins bien toléré qu'un changement progressif.

S'il en est ainsi, tous les Cyprinodontes doivent posséder à des degrés divers les caractéristiques du *Fundulus* : mécanisme de diffusion par échange peu important, mais possibilité de résister aux variations de la natrémie après changement de milieu grâce à l'existence d'une grande résistance cellulaire.

En effet, au cours de quelques expériences préliminaires nous avons constaté que le transfert en ED de *Gambusia* adapté à EM1/2 n'entraîne pas une modification importante du flux sortant de sodium. Il est évident que la concentration de sodium plasmatique doit diminuer, mais nous n'avons fait aucun dosage et nous ignorons l'intensité des échanges de

sodium chez ce poisson adapté à EM1/2. BALL et OLIVEREAU (1964) signalent également que le passage en eau douce d'un autre Cyprinodonte, *Pæcilia latipinna*, provoque une chute de la natrémie.

Il est intéressant de noter que le transfert en eau douce détermine, chez *Fundulus heteroclitus* hypophysectomisé (PICKFORD, 1953; BURDEN, 1956) et chez *Pæcilia latipinna* hypophysectomisé (BALL et OLIVEREAU, 1964), une hyponatrémie importante. Les animaux succombent en quelques jours mais peuvent

être conservés en survie par injection de prolactine. Inversement, l'euryhalinité de l'anguille n'est en rien modifiée par l'hypophysectomie : le poisson survit indifféremment en eau douce, en eau de mer, et supporte de multiples passages d'un milieu à l'autre (CALLAMAND, FONTAINE, OLIVEREAU et RAFFY, 1951).

Il est certain qu'il y a une corrélation entre le type de régulation caractéristique de ces animaux (Osmorégulateurs, Osmoconformes) et leur comportement après hypophysectomie.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Au cours de ce travail, grâce à l'utilisation d'indicateurs nucléaires (^{24}Na et ^{36}Cl), nous avons tenté de dégager quelques-uns des mécanismes responsables des transferts d'électrolytes à travers la branchie des Téléostéens. Une telle étude repose essentiellement sur l'analyse quantitative des courbes d'apparition ou de disparition des isotopes dans le milieu externe ou dans le poisson. Les informations ainsi recueillies permettent de décrire en termes cinétiques les mouvements des ions à travers l'épithélium branchial. Nous avons expérimenté, principalement sur une forme euryhaline, le flet (*Platichthys flesus*) et une forme sténohaline, le serran (*Serranus*). Accessoirement, nous avons utilisé *Anguilla*, *Mugil*, *Fundulus*, *Uranoscopus*, *Chromis*, *Diplodus*, *Gobius* et *Scorpaena*.

Les mécanismes de transfert d'électrolytes.

1° POISSON EURYHALIN. — Nous avons montré que, chez deux Téléostéens euryhalins (flet et anguille), la majorité des mouvements d'électrolytes observés à travers l'épithélium branchial résulte d'un échange ion pour ion entre certains électrolytes du milieu extérieur et certains électrolytes plasmatiques.

a) *En eau douce.* — Pour conserver l'équilibre de sa balance minérale le poisson doit absorber des électrolytes du milieu extérieur. Cette absorption branchiale, qui s'effectue contre le gradient chimique, est réalisée grâce à un échange entre une espèce ionique du milieu extérieur et une espèce ionique *différente* du milieu intérieur : le sodium externe est échangé contre de l'ammonium endogène (échange $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$). Parallèlement, un échange $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ existe vraisemblablement chez le flet, mais il ne peut être mis en évidence dans la branchie de l'anguille qui, en eau douce, s'avère imperméable au chlore.

b) *En eau de mer.* — Pour conserver l'équilibre de sa balance hydrique le poisson marin boit de l'eau de mer et excrète les électrolytes qu'elle contient. On a montré, en fait, que la quantité d'électrolytes excrétés par la branchie contre le gradient chimique était bien supérieure à la quantité absorbée par l'eau de boisson (de l'ordre de 6 fois plus).

Environ 85 % du flux sortant branchial d'électrolytes résulte d'un échange entre une espèce ionique du milieu intérieur et la *même* espèce ionique du milieu extérieur : échange sodium interne contre sodium externe (Na^+/Na^+) et chlore interne contre chlore externe (Cl^-/Cl^-). Les résultats obtenus permettent de conclure à un couplage des flux entrant et sortant de sodium, et des flux entrant et sortant de chlore (mécanismes d'« échange diffusion »).

La fraction résiduelle du flux sortant de sodium ou de chlore correspond vraisemblablement au flux net d'excrétion branchial qui compense le flux net d'absorption intestinal. Dans l'impossibilité où nous sommes de mesurer le potentiel bio-électrique de la branchie, nous ne pouvons caractériser le mécanisme responsable de ce flux net d'excrétion. Notons que le flux net est *a priori* le seul à avoir une signification physiologique, car c'est grâce à lui que l'équilibre minéral de l'organisme entier est maintenu. Cependant, dans certaines conditions (variation de la salinité du milieu externe), il semble possible d'attribuer une signification physiologique aux échanges Na^+/Na^+ et Cl^-/Cl^- .

2° POISSON STÉNOHALIN MARIN : *Le serran.* — Il n'existe aucun couplage entre les flux entrant et sortant de sodium ou de chlore. Il ne nous a pas été possible de mettre en évidence une éventuelle indépendance des transferts de sodium et de chlore et nous ne pouvons actuellement définir les mécanismes responsables de ces transferts.

Intensité des transferts d'électrolytes.

Bien que les mécanismes de la perméabilité branchiale aux ions puissent être foncièrement différents suivant les espèces, comme nous venons de le voir pour le flet et le serran, il faut insister sur le fait que chez les Téléostéens marins les transferts d'électrolytes sont toujours intenses : le flet et le serran renouvellent environ la moitié de leur sodium à l'heure.

L'importance de ces transferts dépend de la salinité du milieu extérieur : chez le flet, par exemple, les échanges de sodium sont 200 fois plus importants en eau de mer qu'en eau douce (2,6 mEq contre 0,01 mEq/h/100 g).

Contrôle de la perméabilité aux électrolytes.

Il a été étudié au cours d'expériences consistant à modifier la salinité du milieu extérieur.

1° CHEZ LE FLET : nous avons montré que le changement brusque de milieu entraîne l'intervention de deux régulations successives :

— une autorégulation périphérique instantanée, qui est commandée par les variations de la concentration des électrolytes dans le milieu extérieur; cette régulation est immédiatement réversible;

— une régulation différée, vraisemblablement d'origine centrale, qui modifie progressivement la perméabilité de l'épithélium branchial aux électrolytes.

Le déterminisme de ces deux régulations a été recherché. La régulation instantanée est la conséquence de la liaison existant entre les flux entrant et sortant d'électrolytes (échanges Na^+/Na^+ et Cl^-/Cl^-) : la variation de la concentration du sodium dans le milieu externe modifie l'intensité du flux entrant de sodium et, secondairement, celle du flux sortant. La nature de l'interdépendance des flux entrant et sortant est encore totalement hypothétique. Si l'on adopte le modèle théorique de « l'échange diffusion » proposé par USSING, la liaison serait assurée par une combinaison réversible entre un transporteur membranaire et les ions qui traversent la membrane dans chaque sens. En étudiant les relations existant entre les flux de sodium et la

concentration du sodium externe, nous avons cherché à définir les caractéristiques de la combinaison sodium-transporteur. Les résultats obtenus laissent à penser que l'adaptation à différentes salinités ne modifie pas l'affinité du transporteur pour le sodium, mais entraîne une variation de la quantité de transporteur disponible.

Des expériences préliminaires suggèrent que la régulation différée est d'origine endocrinienne : le complexe neurohypophysaire serait impliqué dans cette régulation au cours du transfert dans un milieu de salinité plus élevé que le milieu d'adaptation; dans le cas du transfert dans un milieu de salinité moins élevé, l'intervention du système surrénalien apparaît vraisemblable.

2° CHEZ LE SERRAN : après transfert d'eau de mer en eau douce, on n'observe ni régulation périphérique instantanée ni régulation différée.

Cette absence de régulation explique la diminution rapide de la concentration des électrolytes plasmatiques constatée après transfert du serran en eau douce, déminéralisation qui provoque la mort de l'animal.

Le rôle des mécanismes de transfert ionique dans l'osmorégulation.

Une rapide étude exploratoire menée chez divers Téléostéens nous a montré que l'euryhalinité n'était pas liée à l'existence de la régulation instantanée mais à celle de la régulation différée.

Mais l'absence ou la présence de diffusion par échange permet d'opposer deux types de poissons euryhalins : les Osmorégulateurs (flet, anguille) caractérisés par une relative constance de la concentration des électrolytes plasmatiques et les Osmoconformes (*Fundulus*) caractérisés par une euryhalinité cellulaire qui leur permet de supporter les variations de pression osmotique de leur milieu intérieur.

La mise en évidence de transferts ioniques de types très différents chez des espèces écologiquement voisines, comme *Anguilla* et *Fundulus*, devrait permettre d'expliquer les contradictions concernant des résultats expérimentaux obtenus sur l'une et l'autre espèce. Elle devrait également nous inciter à ne pas généraliser prématurément à l'ensemble des Téléostéens les résultats obtenus sur une espèce déterminée.

RÉSUMÉ

1° Les mécanismes de la perméabilité branchiale aux ions sodium et chlore ont été étudiés, à l'aide d'indicateurs nucléaires, chez des Téléostéens euryhalins et sténohalins marins.

2° L'intensité des transferts d'électrolytes varie avec la salinité du milieu. Ainsi, par exemple, les échanges de sodium sont de 2,6 mEq/h/100 g chez le flet adapté à l'eau de mer, et de 0,01 mEq/h/100 g chez le flet adapté à l'eau douce.

3° Chez le flet (poisson euryhalin) adapté à l'eau de mer, 85 % des transferts résultent d'un échange Na^+/Na^+ et Cl^-/Cl^- , ce qui correspond à un couplage des flux entrant et sortant de chaque espèce ionique (mécanisme de diffusion par échange). 15 % de ces transferts représentent l'excrétion nette branchiale de Na^+ et de Cl^- , qui compense l'absorption nette intestinale.

Chez le serran (poisson sténohalin marin), il n'existe aucun couplage des flux entrant et sortant de sodium ou de chlore.

4° Dans le cas du flet, une modification expérimentale brusque de la concentration des électrolytes externes produit une variation simultanée du flux entrant et du flux sortant qui se fait en deux étapes successives.

La première correspond à une autorégulation péri-

phérique instantanée et réversible, qui découle de l'existence du mécanisme de diffusion par échange.

La seconde correspond à une régulation différée, probablement sous contrôle endocrinien (le complexe neurohypophysaire et les surrénales seraient impliqués dans la régulation). Cette régulation produit une modification progressive de la perméabilité branchiale.

Le processus de l'adaptation semble lié à une variation de la quantité de « transporteur de diffusion par échange » disponible, sans modification de l'affinité de ce transporteur pour le sodium.

5° Dans le cas du serran, on n'observe aucune régulation instantanée après variation de la concentration des électrolytes externes. Suivant l'amplitude de cette variation, on constate ou non l'intervention d'une régulation différée. Elle n'apparaît pas, notamment, après transfert du poisson en eau douce.

6° Le rôle de ces mécanismes dans l'osmorégulation des Téléostéens a été discuté. Deux types de poissons euryhalins ont été ainsi définis : les osmorégulateurs (flet, anguille) qui, contrairement aux osmoconformes (*Fundulus*), possèdent le mécanisme de diffusion par échange.

La régulation secondaire est observée, après transfert en eau douce, chez ces deux types d'euryhalins.

SUMMARY

1° The mechanisms of the permeability of the gills of euryhaline and marine stenohaline Teleosts to sodium and chloride ions have been studied with radioactive tracers.

2° The rate of electrolyte transfer varies with the salinity of the adaptation medium. For example the seawater adapted flounder exchanges about 2,6 mEq/h/100 g of sodium while the freshwater adapted fish exchanges only 0.01 mEq/h/100 g.

3° In the euryhaline flounder adapted to seawater, 85 per cent of the transfer rate is the result of a Na^+/Na^+ and Cl^-/Cl^- exchange corresponding to a coupling of the influx and outflux of each ion (exchange diffusion mechanism). 15 per cent of the transfer rate corresponds to a net excretion of Na and Cl through the gill that balances out the net absorption of these ions occurring through the gut.

In the stenohaline *Serranus*, no coupling of the Na and Cl influx and outflux has been observed.

4° In the case of the flounder, an experimental modification of the sodium chloride external concentration induces a simultaneous variation of the influx and outflux that takes place in two steps.

The first step corresponds to an instantaneous and reversible peripheral autoregulation, that is the consequence of the exchange diffusion mechanism.

The second step corresponds to a delayed regulation probably endocrine controlled, the neurohypophysis and adrenals being both concerned. This regulation produces a progressive modification of the gill permeability. This is the result of a variation of the quantity of the hypothetical carrier available for exchange diffusion rather than of a variation of the affinity of this carrier for sodium.

5° In *Serranus*, after transfer to media of lower salinities, no instantaneous regulation can be observed. In the extreme case of transfer to freshwater no delayed regulation occurs, but after transfer to 1/4 SW, a delayed regulation is seen, permitting the fish to survive in this medium.

6° The role of these mechanisms in osmoregulation of fish is discussed. Two types of euryhaline fish are described: the osmoconformers (*Fundulus*) differing from the osmoregulators (*Anguilla*, *Platichthys*) by the absence of the exchange diffusion mechanism. Both types exhibit a delayed regulation after transfer to freshwater.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSEN (B.) et USSING (H. H.), 1957. — Solvent drag on non-electrolytes during osmotic flow through isolated toad skin and its response to antidiuretic hormone. *Acta Physiol. Scand.*, **39**, 228-240.
- ARVY (L.), FONTAINE (M.) et GABE (M.), 1959. — La voie neurosécrétrice hypothalamo-hypophysaire des Téléostéens. *J. Physiol. (Paris)*, **51**, 1031-1085.
- BALDWIN (E.), 1949. — *An introduction to comparative biochemistry*. Cambridge Univ. Press.
- BALL (J. N.) et OLIVEREAU (M.), 1964. — Rôle de la prolactine dans la survie en eau douce de *Percilia latipinna* hypophysectomisé et arguments en faveur de sa synthèse par les cellules érythrosinophiles η de l'hypophyse de Téléostéens. *Compt. rend. (Paris)*, **259**, 1443-1446.
- BENTLEY (P. J.), 1964. — Physiological properties of the isolated frog bladder in hyperosmotic solutions. *Comp. Biochem. Physiol.*, **12**, 233-239.
- BURDEN (C. E.), 1956. — The failure of hypophysectomized *Fundulus heteroclitus* to survive in freshwater. *Biol. Bull.*, **110**, 8-28.
- BURIAN (R.), 1908-1909. — Methoden zum Auffangen von Fischharn. *Z. biol. Tech. Methodik.*, **1**, 383-391.
- CALLAMAND (O.), 1943. — L'anguille européenne (*Anguilla anguilla* L.). Les bases physiologiques de sa migration. *Ann. Inst. Océanog. (Paris)*, **21**, 365-441.
- CALLAMAND (O.), FONTAINE (M.), OLIVEREAU (M.) et RAFFY (A.), 1951. — Hypophyse et osmorégulation chez les poissons. *Bull. Inst. Océanog.*, **48**, (984), 7 p.
- CARLSON (I. H.) et HOLMES (W. N.), 1962. — Changes in the hormone content of the hypothalamo-hypophysial system of the rainbow-trout (*Salmo gairdneri*). *J. Endocrinol.*, **24**, 23-32.
- CHAVIN (W.), 1956. — Pituitary-adrenal control of melanization in xanthic goldfish, *Carassius auratus*. *J. Exp. Zool.*, **133**, 1-46.
- CLARKE (R. W.), 1934. — The xylose clearance of *Myoxocephalus octodecimspinosus* under normal and diuretic conditions. *J. Cellular Comp. Physiol.*, **5**, 73-82.
- COOPERSTEIN (I. L.) et HOGGEN (G. A. M.), 1959. — Ionic transfer across the isolated frog large intestine. *J. Gen. Physiol.*, **42**, 461-473.
- CROGHAN (P. C.), 1958. — Ionic fluxes in *Artemia salina* L. *J. Exp. Biol.*, **35**, 425-437.
- DELAUNAY (H.), 1929. — Sur l'excrétion azotée des poissons. *Compt. rend. soc. biol.*, **101**, 371-372.
- DURBIN (R. P.), KITAHARA (S.), STAHLMAHN (K.) et HEINZ (E.), 1964. — Exchange diffusion of chloride in frog gastric mucosa. *Amer. J. Physiol.*, **207**, 1177-1180.
- DUVAL (M.), 1925. — Recherches physicochimiques et physiologiques sur le milieu intérieur des animaux aquatiques. Modifications sous l'influence du milieu extérieur. *Ann. Inst. Océanog. (Paris)*, **2**, 234-407.
- EDELMAN (I. S.), YOUNG (H. L.) et HARRIS (J. B.), 1960. — Effects of corticosteroids on electrolyte metabolism during osmoregulation in Teleosts. *Amer. J. Physiol.*, **199**, 666-670.
- EDWARDS (J. G.) et CONDORELLI (L.), 1928. — Studies on aglomerular and glomerular kidneys. II. Physiological. *Amer. J. Physiol.*, **86**, 383-398.
- FONTAINE (M.), 1956. — The hormonal control of water and salt-electrolyte metabolism in fish. *Mem. Soc. Endocrin.*, n° 5, 69-82.
- 1963. — Evolution of form and function of endocrine organs with special reference to the adrenal gland. *Proceedings of the 16th International Congress of Zoology. Washington*, **3**, 25-34.
- 1964. — Corpuscule de Stannius et régulation ionique (Ca, K, Na) du milieu intérieur de l'anguille (*Anguilla anguilla* L.). *Compt. rend. (Paris)*, **259**, 875-878.
- FONTAINE (M.) et KOCH (H.), 1950. — Les variations d'euryhalinité et d'osmorégulation chez les poissons. Leur rapport possible avec le déterminisme des migrations. *J. Physiol. (Paris)*, **42**, 287-318.
- FONTAINE (M.) et LELOUP-HATEY (J.), 1959. — Mise en évidence de corticostéroïdes dans l'interrénal d'un Téléostéen : le saumon (*Salmo salar* L.). *J. Physiol. (Paris)*, **51**, 468-469.
- FONTAINE (M.) et OLIVEREAU (M.), 1957. — Interrénal antérieur et smoltifications chez *Salmo salar* L. *J. Physiol.*, (Paris), **49**, 174-176.
- FORSTER (R. P.), 1953. — A comparative study of renal function in marine teleosts. *J. Cellular Comp. Physiol.*, **42**, 487-510.
- GARCIA ROMEU (F.) et MAETZ (J.), 1964. — The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a fresh water fish, *Carassius auratus*. I. Evidence for an independent uptake of sodium and chloride ions. *J. Gen. Physiol.*, **47**, 1195-1207.
- GOLDSTEIN (L.) et FORSTER (R. P.), 1961. — Source of ammonia excreted by the gills of the marine teleost, *Myoxocephalus scorpius*. *Amer. J. Physiol.*, **200**, 1116-1118.
- GORDON (M.), 1963. — Chloride exchanges in rainbow-trout (*Salmo gairdneri*) adapted to different salinities. *Biol. Bull.*, **124**, 45-54.
- HARTLEY (P. H. T.), 1947. — Observations on flounders *Pleuronectes flesus* L. marked in the estuaries of the Tamar and Lynher. *J. mar. biol. Ass. U. K.*, **27**, 53-64.

- HAYWOOD (C.) et CLAPP (M. J.), 1942. — A note on the freezing points of the urines of two freshwater fishes : the catfish (*Ameiurus nebulosus*) and the sucker (*Catostomus commersonii*). *Biol. Bull.*, **83**, 363-366.
- HENSCHER (J.), 1936. — Wasserhaushalt und Osmoregulation von Scholle und Flunder. *Wiss. Meeresunters. Abt. Kiel.*, **22**, 91-121.
- HOUSE (C. R.), 1963. — Osmotic regulation in the brackish water teleost, *Blennius pholis*. *J. Expt. Biol.*, **40**, 87-104.
- IDLER (D. R.), RONALD (A. P.) et SCHMIDT (P. J.), 1959. — Biochemical studies on sockeye salmon during spawning migration VII steroid hormones in plasma. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 1227-1238.
- ISTIN (M.), 1964. — Perméabilité au calcium du manteau de divers lamellibranches étudiés à l'aide d'isotopes radioactifs. Thèse 3^e cycle Sci. nat. (Paris).
- KEYNES (R. D.), 1965. — Some further observations on the sodium efflux in frog muscle. *J. Physiol. (London)*, **178**, 305-325.
- KEYNES (R. D.) et SWAN (R. C.), 1959. — The effect of external sodium concentration on the sodium fluxes in frog skeletal muscle. *J. Physiol. (London)*, **147**, 591-625.
- KEYS (A. B.), 1931. — Chloride and water secretion and absorption by the gills of the eel. *Z. vergleich. Physiol.*, **15**, 364-388.
- KIRSCHNER (L. B.), 1955. — On the mechanism of active sodium transport across the frog skin. *J. Cellular Comp. Physiol.*, **45**, 61-87.
- KROGH (A.), 1937. — Osmotic regulation in freshwater fishes by active absorption of chloride ions. *Z. vergleich. Physiol.*, **24**, 656-666.
- 1939. — *Osmotic regulation in aquatic animals*. Cambridge University Press. London and New York.
- LANGE (R.) et FUGELLI (K.), 1965. — The osmotic adjustment in the euryhalin teleosts, the flounder, *Pleuronectes flesus* L. and the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. *Comp. Biochem. Physiol.*, **15**, 283-292.
- LÉDERIS (K.), 1963. — Effects of salinity on hormone content and on ultrastructure of trout neurohypophysis. *J. Endocrinol.*, **26**, 21-22.
- LELOUP-HATEY (J.), 1964 a. — Etude du déterminisme de l'activation de l'interrénal antérieur observée chez quelques Téléostéens soumis à un accroissement de la salinité du milieu extérieur. *Arch. des Sci. Physiol.*, **18**, 293-324.
- 1964 b. — Modifications de l'équilibre minéral de l'anguille (*Anguilla anguilla* L.) consécutives à l'ablation des corpuscules de Stannius. *Compt. rend. soc. biol.*, **158**, 711-715.
- 1964 c. Influence d'un apport sodique et de l'aldostérone sur le déséquilibre minéral consécutif à l'ablation des corpuscules de Stannius chez l'anguille. *Compt. rend. soc. biol.*, **158**, 991-994.
- LINDLEY (B. D.), HOSHIKO (T.) et LEB (D. E.), 1964. — Effects of D₂O and osmotic gradients on potential and resistance of the isolated frog skin. *J. Gen. Physiol.*, **47**, 773-794.
- LUCARAIN (C.), 1962. — Un dispositif semi-automatique pour la mesure des pressions osmotiques. *Rev. franç. Et. clin. biol.*, **7**, 213-215.
- MAETZ (J.), 1956. — Les échanges de sodium chez le poisson *Carassius auratus* L. Action d'un inhibiteur de l'anhydrase carbonique. *J. Physiol. (Paris)*, **48**, 1085-1099.
- 1963. — Physiological aspects of neurohypophyseal function in fishes with some reference to the amphibia. *Symp. Zool. Soc. Lond.*, **9**, 107-140.
- MAETZ (J.), BOURGUET (J.) et LAHLOU (B.), 1964. — Urophysse et osmorégulation chez *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrin.*, **4**, 401-414.
- MAETZ (J.), BOURGUET (J.), LAHLOU (B.) et HOURDRY (J.), 1964. — Peptides neurohypophysaires et osmorégulation chez *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrin.*, **4**, 508-522.
- MAETZ (J.) et GARCIA ROMEU (F.), 1964. — The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a freshwater fish, *Carassius auratus*, II. Evidence for NH₄⁺/Na⁺ and HCO₃⁻/Cl⁻ exchanges. *J. Gen. Physiol.*, **47**, 1209-1227.
- MAETZ (J.) et MOREL (F.), 1965. — Mécanismes endocriniens communs de l'osmorégulation chez les vertébrés. *Arch. Anat. microsc.*, **54**, 515-530.
- MANERY (J. F.), 1954. — Water and electrolyte metabolism. *Physiol. Rev.*, **34**, 334-417.
- MARSHALL (E. K.), 1930. — A comparison of the function of the glomerular and aglomerular kidney. *Amer. J. Physiol.*, **94**, 1-10.
- MEYER (D. K.), 1951. — Sodium flux through the gills of goldfish. *Amer. J. Physiol.*, **165**, 580-587.
- 1948. — Physiological adjustments in chloride balance of the goldfish. *Science*, **108**, 305-307.
- MOHSEN (T.) et EMERIT (M.), 1961. — Adaptative euryhalinity in the Cyprinodont *Lebistes reticulatus* Peters. *Nature (Lond.)*, **190**, 932-933.
- MOTAIS (R.), 1961 a. — Les échanges de sodium chez un Téléostéen euryhalin, *Platichthys flesus* Linné : Cinétique de ces échanges lors des passages d'eau de mer en eau douce et d'eau douce en eau de mer. *Compt. rend. (Paris)*, **253**, 724-726.
- 1961 b. — Cinétique des échanges de sodium chez un téléostéen euryhalin (*Platichthys flesus* L.) au cours de passages successifs eau de mer, eau douce, eau de mer en fonction du temps de séjour en eau douce. *Compt. rend. (Paris)*, **253**, 2609-2611.
- MOTAIS (R.), GARCIA ROMEU (F.) et MAETZ (J.), 1965. — Mécanisme de l'euryhalinité. Etude comparée du flet (euryhalin) et du serran (sténohalin) au cours du transfert en eau douce. *Compt. rend. (Paris)*, **261**, 801-804.
- MOTAIS (R.) et MAETZ (J.), 1964. — Action des hormones neurohypophysaires sur les échanges de sodium (mesurés à l'aide du radiosodium ²⁴Na) chez un téléostéen euryhalin *Platichthys flesus*. *Gen. Comp. Endocrin.*, **4**, 210-224.
- 1965. — Comparaison des échanges de sodium chez un Téléostéen euryhalin (le flet) et un Téléostéen sténohalin (le serran), en eau de mer. Importance relative du tube digestif et de la branchie dans ces échanges. *Compt. rend. (Paris)*, **261**, 532-535.
- MULLINS (L. J.), 1950. — Osmotic regulation in fish as studied with radioisotopes. *Acta Physiol. Scand.*, **21**, 303-314.

- MULLINS (L. J.) et FRUMENTO (A. S.), 1963. — The concentration dependence of sodium efflux from muscle. *J. Gen. Physiol.* **46**, 629-654.
- NANDI (J.) et BERN (H. A.), 1965. — Chromatography of corticosteroids from Teleost fishes. *Gen. Comp. Endocrinol.* **5**, 1-15.
- OGURI (M.), 1960. — Studies on the adrenal glands of Teleosts. *Bull. Jap. Sci. Fish.*, **26**, 476-480.
- OLIVIEREAU (M.), 1961. — Corpuscules de Stannius et reproduction chez l'anguille mâle. *Compt. rend. (Paris)*, **253**, 541-543.
- 1962. — Modifications de l'interrenal du Smolt (*Salmo salar* L.) au cours du passage d'eau douce en eau de mer. *Gen. Comp. End.*, **2**, 565-573.
- 1963. — Action de l'aldactone sur les corpuscules de Stannius de l'anguille. *Compt. rend. (Paris)*, **257**, 4035-4038.
- PHILLIPS (J. G.) et BELLAMY (D.), 1963. — Adrenocortical hormones. In *Comparative Endocrinology*, vol. 1, 208-257. Edited by U. S. von Euler et H. Heller. Academic press. London and New York.
- PHILLIPS (J. G.), HOLMES (W. N.) et BONDY (P. K.), 1959. — Adrenocorticosteroids in salmon plasma (*Oncorhynchus nerka*). *Endocrinology*, **65**, 811-818.
- PHILLIPS (J. G.) et MULROW (P. J.), 1959 a. — Corticosteroid production *in vitro* by the interrenal tissue of killifish, *Fundulus heteroclitus*. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **101**, 262-264.
- 1959 b. — Failure of corpuscules of Stannius from winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) to synthesize adrenocorticosteroids *in vitro*. *Nature (Lond.)*, **184**, 588-589.
- PICKFORD (G. E.), 1953. — A study of the hypophysectomized male killifish, *Fundulus heteroclitus* L. *Bull. Bingham. oceanogr. Coll.*, **14**, 5-41.
- 1959. — Endocrinological studies on the euryhaline killifish, *Fundulus heteroclitus* L. *Yale J. Biol. Med.*, **31**, 341-362.
- PORTIER (P.) et DUVAL (M.), 1922. — Variation de la pression osmotique du sang de l'anguille en fonction des modifications de salinité du milieu extérieur. *Compt. rend. (Paris)*, **175**, 324-326.
- PROSSER (C. L.) et BROWN (F. A. Jr.), 1962. — *Comparative animal Physiology*. Second edition. W. B. Saunders, Philadelphia.
- RASQUIN (P.), 1956. — Cytological evidence for a role of the corpuscule of Stannius in the osmoregulation of teleosts. *Biol. Bull.*, **111**, 399-409.
- ROLF (D.), SURTSHIN (A.) et WHITE (H. L.), 1950. — A modified diphenylamine procedure for fructose and inulin determination. *Proc. Soc. Exptl. Biol.*, **72**, 351-354.
- SANDERSON (P. H.), 1952. — Potentiometric determination of chloride in biological fluids. *Biochem. J.*, **52**, 502-505.
- SCHIEBLER (T. H.) et HARTMANN (J.), 1963. — Histologische und histochemische Untersuchungen am neurosekretorischen Zwischenhirn - hypophysensystem von Teleostern unter normalen und experimentellen Bedingungen. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.*, **60**, 89-146.
- SCHLIEPER (C.), 1933. — Ueber die osmoregulatorische Funktion der Aalkiemmen. *Z. vergleich. Physiol.*, **18**, 682-695.
- SHARRATT (B. M.), CHESTER JONES (I.) et BELLAMY (D.), 1964 a. — Water and electrolyte composition of the body and renal function of the eel (*Anguilla anguilla* L.). *Comp. Biochem. Physiol.* **11**, 9-18.
- 1964 b. — Adaptation of the silver eel (*Anguilla anguilla*) to sea water and to artificial media together with observations on the role of the gut. *Comp. Biochem. Physiol.*, **11**, 19-30.
- SMITH (H. W.), 1929. — The excretion of ammonia and urea by the gills of fish. *J. Biol. Chem.*, **81**, 727-742.
- 1930. — The absorption and excretion of water and salts by marine teleosts. *Amer. J. Physiol.*, **93**, 480-505.
- 1932. — Water regulation and its evolution in fishes. *Quart. Rev. Biol.*, **7**, 1-26.
- SOLOMON (A. K.), 1960. — *Compartmental methods of kinetic analysis*. In *Mineral metabolism* (Comar C. F. and Bronner F., ed.), vol. 1, part A. Acad. Press New York, 119-167.
- 1963. — Single proximal tubules of *Necturus* kidney. VII. Ion fluxes across individual faces of cell. *Amer. J. Physiol.*, **204**, 381-386.
- STANLEY (J. G.) et FLEMING (W. R.), 1964. — Excretion of hypertonic urine by a teleost. *Science*, **144**, (3614), 63-64.
- THORNBURN (C. C.) et MATTY (A. J.), 1963. — The effect of thyroxine on some aspects of nitrogen metabolism in the goldfish (*Carassius auratus*) and the trout (*Salmo trutta*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **8**, 1-12.
- TOSTESON (D. C.) et HOFFMAN (J. F.), 1960. — Regulation of cell volume by active cation transport in high and low potassium sheep red cells. *J. Gen. Physiol.*, **44**, 169-194.
- USSING (H. H.), 1947. — Interpretation of the exchange of radiosodium in isolated muscle. *Nature, (Lond.)*, **160**, 262-263.
- 1965. — Relationship between osmotic reactions and active sodium transport in the frog skin epithelium. *Acta Physiol. Scand.*, **63**, 141-155.
- USSING (H. H.) et ANDERSEN (B.), 1955. — The relation between solvent drag and active transport of ions. *Proc. 3rd Internat. Congr. Biochem. Bruxelles*, 434-440.
- USSING (H. H.) et WINDHAGER (E. E.), 1964. — Nature of shunt path and active sodium transport path through frog skin epithelium. *Acta Physiol. Scand.*, **61**, 484-504.
- VARGAS (F. F.) et CONCHA (J. B.), 1957. — Fisiología de las glándulas adrenales en el Teleosteo, *Sicyases sanguineus*. *Invest. Zool. Chil.*, **3**, 88-95.
- WOLBACH (R. A.), HEINEMANN (H. O.) et FISHMAN (P.), 1959. — The excretion of ammonia by the gills of the freshwater catfish, *Ameiurus nebulosus*. *Bull. Mt. Desert Island Biol. lab.*, **4**, 56-57.

Masson et C^{ie}, Edit., Paris. Dépôt légal : 4^e trim. 1966. N° d'ordre : 4292.

Imprimé par Soulisse et Cassegrain, à Niort (France). 10-1966.

Dépôt légal : 4^e trim. 1966. N° d'ordre : 764.

(Printed in France.)

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

ÉQUILIBRE IONIQUE ET OSMOTIQUE CHEZ LES PROTISTES

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 8 décembre 1965.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

MARC ZAMANSKY.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

JEAN ROCHE.

